

HS Taq-D DNA 聚合酶 (HS KlenTaq)

目录号: AE0125/AE0126

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

本酶为 Taq-D DNA 聚合酶 (KlenTaq) 的热启动版本, 需 95 度加热 5 分钟或 98 度加热 2 分钟而激活。本酶为重组表达的嗜热细菌 *Thermus aquaticus* 来源的基因工程改造的外切酶活性缺失型 Taq DNA 聚合酶 (删除了 5' 外切酶结构域)。本酶具有 5'→3' 聚合酶活性, 无 5'→3' 外切酶活性和 3'→5' 外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 尾巴。扩增片段的长度可达 3 kb。延伸速度为 1.0 kb/min (72℃)。本酶不可用于 Taqman 探针法 q-PCR。尤其适合于溶解曲线法单核苷酸多态性 (SNP) 分型。同时, 较适合扩增血液等含 PCR 抑制剂的样本。

活性定义

以大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 72℃、30 min 内, 将 10 nmole 脱氧核糖核苷酸掺入到酸不溶物中所需的酶量, 定义为一个活性单位 (U)。

浓度: 5U/μl

保存条件: -20℃ 保存

特点

- 本酶为热启动聚合酶, 可提高扩增的特异性, 减少非特异性扩增和引物二聚体;
- 相比普通 Taq DNA 聚合酶, 本酶更加适合未处理的血液、组织、唾液等样本的 PCR;
- 热稳定性好: 95℃ 下半衰期超过 40 min;
- 模板 DNA 耐受范围广;
- PCR 产物具有 3'-dA 尾巴, 可直接用于 T/A 克隆;
- 可以掺入 dUTP、dITP、荧光标记核苷酸。

适用范围

- 溶解曲线法单核苷酸多态性 (SNP) 分型
- 血液、组织样本等直扩 PCR
- DNA 荧光标记

产品包装规格及组成

Component	AE0125A/ AE0126A*	AE0125B/ AE0126B*	AE0125C/ AE0126C*	AE0125D/ AE0126D*
HS Taq-D DNA polymerase	250U	250U×5	1250U×4	2500U×5
10×Taq-D Buffer	0.5 ml×1	1.0 ml×3	5.0 ml×2	5.0 ml×5
2 mM dNTPs	-/0.5 ml×1	-/1.0 ml×3	-/5.0 ml×2	-/5.0 ml×5

*附带 2mM dNTP 混合物。

质量控制

相关测试表明无外源内切酶或外切脱氧核糖核酸酶污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

室温放置一周, 扩增活性无明显改变; 但强烈建议不要在室温下长期放置, 用毕放回 -20 度。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Nonidet P40, 0.5% Tween 20, and 50% glycerol.

应用举例

客户至尊，追求卓越，作酶行业领跑者，助推国产品牌计划

以下反应举例为 50 μ l 标准 PCR 体系，仅供参考。实际 PCR 条件应根据模板、引物、目的片段大小加以优化，确定最佳反应条件。

组份	体积/ μ l	终浓度
10 $\times$ Taq-D Buffer	5	1 $\times$
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物 F (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
引物 R (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
Template	Variable*	/
HS Taq-D (5U/ μ l)	0.5	2.5U
ddH ₂ O	Variable	/
总体积	50	/

*DNA template 可参照如下标准 (50 μ l PCR 体系)：

人类基因组 DNA	0.1 μ g-1 μ g
λ DNA	0.5 ng-5 ng
质粒 DNA	0.01 ng-1 ng
大肠杆菌 DNA	10 ng-100 ng

PCR 反应条件

95 $^{\circ}$ C	5 min	}	30 Cycles
95 $^{\circ}$ C	15 sec		
55~72 $^{\circ}$ C	20 sec		
72 $^{\circ}$ C	1 min/kb		
72 $^{\circ}$ C	5 min		

注意事项

- 本酶为热启动聚合酶，需 95 度加热 5 分钟或 98 度加热 2 分钟而激活；因此有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增和引物二聚体，得到良好的 PCR 结果。
- Taq-D DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的腺嘌呤。
- 碱基出错率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。Taq-D DNA 聚合酶的碱基错误率为 1×10^{-5} 。
- 对非热启动酶而言，建议在冰上配置 PCR 反应液后，再放入 PCR 仪中进行扩增。这有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增，得到良好的 PCR 结果。
- 如进行 PCR 扩增后，除目的条带外，还伴随其他杂带，建议适当减少体系中的酶用量，以增加 PCR 扩增反应的特异性。
- 本公司 Buffer 经大量 PCR 反应实例优化而成，然而对某些 PCR 反应存在一个最优的镁离子浓度。若需要优化镁离子浓度，请购买本公司不含镁离子的 buffer 和 $MgCl_2/MgSO_4$ 。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。