

产品说明

KlenTaq-S 测序酶是 Taq DNA 聚合酶的改造版，为 Taq DNA 聚合酶的大片段，并做了基因突变。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。相比普通 Taq DNA 聚合酶，KlenTaq-S 测序酶具有很强的 ddNTP 的渗入能力，因此其适用于终止法 DNA 测序或焦磷酸解反应 SNP 分析。

本公司 KlenTaq-S 测序酶是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 72℃下，1×AM PCR Buffer 1，30 min 内将 10 nmole dNTP 掺入酸不溶性物质所需的酶量。

浓度：5U/μl

保存条件：-20℃可保存 2 年，避免反复冻融

特点

- 尤其适合 ddNTP 等修饰核苷酸的掺入反应
- 相比全长 Taq DNA 聚合酶，本酶比活性有所降低

适用范围

- ddNTP 终止法 DNA 测序（一代测序）
- 焦磷酸解反应延伸法 SNP 分析

产品包装规格及组成

Component	AE0131A	AE0131B	AE0131C	AE0131D
KlenTaq-S 测序酶	250U	250U×5	1250U×4	2500U×5
10×AM PCR Buffer 1	0.5ml	1.0ml×3	5ml×2	5ml×5

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% Tween20, and 50% glycerol.

注意事项

- PCR 条件和野生型 Taq DNA 聚合酶类似，对特定 DNA 的测序反应可能需要优化。
- 本酶扩增能力较野生型 Taq DNA 聚合酶有所降低，PCR 产量有所降低，不建议用于常规 PCR。
- **不可用于 Taqman 探针法 q-PCR。**

使用实例：

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。

1) 按下表配制反应体系

组份	体积/ μ l	终浓度
10 $\times$ AM PCR Buffer 1	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*	/
KlenTaq-S测序酶 (5U/ μ l)	0.5	2.5U
ddH ₂ O	Variable	/
总体积	50	/

*模板DNA用量参数(50 μ l反应体系):

人基因组DNA 100-1000 ng ; 微生物基因组DNA 10-100ng; PCR产物 1 ng-10 ng;
Plasmid DNA 5-30 ng ; cDNA from RT reaction 1-5 μ l。

2) 按如下条件进行反应，

95 $^{\circ}$ C	2-5 min	25-35 Cycles
95 $^{\circ}$ C	15 sec	
55~72 $^{\circ}$ C	20 sec	
72 $^{\circ}$ C	1kb/min	
72 $^{\circ}$ C	5 min	

3) 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物，或按实验目的进行后续操作。

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。