

## 产品说明

*Tkd Plus* DNA 聚合酶是大肠杆菌重组表达的嗜热古细菌来源的热稳定型 DNA 聚合酶，分子量为 90 KD。其保真性是普通 Taq DNA 聚合酶的 60 倍左右。**本酶经多步特殊改造，具有超强扩增能力和延伸速度，扩增片段的长度可达 8-15 kb，延伸速度为 3-6 kb/ min (72℃)**。该酶具有 5'→3' 聚合酶活性和 3'→5' 外切酶活性。扩增产物为平末端，不适合 TA 克隆。

## 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 nmol 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：**2U/μl

**保存条件：**-20℃ 保存

## 特点

- **本酶经多步特殊改造，具有超强扩增能力和延伸速度，可在 3kb/ min 延伸条件下，有效扩增 8-15kb 的 DNA 片段；**
- 热稳定性好：98℃ 下半衰期超过 40 min；
- 保真性最高：保真性是 Taq DNA 聚合酶的 60 倍；
- 耐受 dUTP、dITP；
- PCR 产物具有平滑末端，可直接用于平端克隆。

## 适用范围

- 高保真性 PCR 扩增
- 制备基因克隆或蛋白表达用的 PCR 产物
- 平末端 PCR 克隆(去除 3'突出端)
- 位点特异性突变

## 产品包装规格及组成

| Component                      | AE0223A/<br>AE0224A* | AE0223B/<br>AE0224B* | AE0223C/<br>AE0224C* | AE0223D/<br>AE0224D* |
|--------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Tkd plus</i> DNA polymerase | 250U                 | 250U×5               | 1250U×4              | 2500U×5              |
| 10× <i>Tkd plus</i> 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), 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 100 mM KCl, 0.5% Nonidet P40, 0.5% Tween 20, and 50% glycerol.

## 应用举例

注：以下反应举例为 50  $\mu$ 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/ $\mu$ l | 终浓度         |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| 10 $\times$ Tkd plus Buffer | 5           | 1 $\times$  |
| dNTPs (2.0 mM)              | 5           | 0.2 mM      |
| 引物 F (10 $\mu$ M)           | 1.5         | 0.3 $\mu$ M |
| 引物 R (10 $\mu$ M)           | 1.5         | 0.3 $\mu$ M |
| Template                    | Variable*   | /           |
| Tkd plus (2U/ $\mu$ l)      | 0.5         | 1U          |
| ddH <sub>2</sub> O          | Variable    | /           |
| 总体积                         | 50          | /           |

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

- 人类基因组 DNA 0.1  $\mu$ g-1  $\mu$ g
- $\lambda$ 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

|                    |           |             |
|--------------------|-----------|-------------|
| 98 $^{\circ}$ C    | 3 min     | } 30 Cycles |
| 98 $^{\circ}$ C    | 10 sec    |             |
| 55~72 $^{\circ}$ C | 15 sec    |             |
| 72 $^{\circ}$ C    | 2-3kb/min |             |
| 72 $^{\circ}$ C    | 5 min     |             |

## 注意事项

- Tkd plus DNA 聚合酶具有很强的 3' 外切核酸酶活性，因此在 PCR 产物 3' 为平末端，不适合 TA 克隆。要进行 TA 克隆需用 Taq DNA 聚合酶对 PCR 产物进行加 A 处理。
- Tkd plus DNA 聚合酶为高保真酶，忠实性是 Taq DNA 聚合酶的 68 倍。
- 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<sub>2</sub>/MgSO<sub>4</sub>。

**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。