

## Taq DNA polymerase

### 规格及组成:

PK00305	500U Taq,	10×Taq reaction buffer,	25mM MgCl <sub>2</sub>
PK00330	500U Taq×6,	10×Taq reaction buffer,	25mM MgCl <sub>2</sub>
PK00310	2500U Taq ×4,	10×Taq reaction buffer,	25mM MgCl <sub>2</sub>

浓度: 5U/μl

保存温度: -20℃

### 制品说明:

本制品是94KDa的耐热性Taq DNA聚合酶(简称Taq酶)。基因来源为Thermus aquaticus DNA polymerase, 将其克隆到大肠杆菌中进行表达后, 分离提取而得到的。其具有与天然Taq DNA聚合酶相同的功能。Taq酶可以催化5'至3'方向的依赖于DNA模板的脱氧核苷酸的聚合。Taq酶不具有3'到5'的外切酶活性。

### 活性定义:

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物, 在74℃下, 30分钟内, 将10nmol的全核苷酸转化为酸性不溶物的活性所需要酶量为1个活性单位。

### 纯度:

- 1) SDS-PAGE电泳纯度: 将50U酶行SDS-PAGE电泳, 经考马斯亮蓝染色, 其纯度大于90%。
- 2) 核酸酶
  - 1: 将10U的酶与1μg λDNA在50μl反应体系中, 25℃反应8小时, 45℃反应4个小时, 74℃反应4个小时, 经琼脂糖电泳, 电泳条带不发生变化。
  - 2: 将10U的酶与1μg λDNA/Hind III在50μl反应体系中, 25℃反应8个小时, 45℃反应4个小时, 74℃反应4个小时, 经琼脂糖电泳, 电泳条带不发生变化。
  - 3: 将10U的酶与1μg超螺旋质粒pGEM3Zf在50μl反应体系中, 25℃反应8个小时, 45℃反应4个小时, 74℃反应4个小时, 经琼脂糖电泳, 电泳条带不发生变化。

### 用途:

- 1) PCR法扩增DNA
- 2) DNA标记
- 3) 测序

### PCR反应性能:

- 1) 以λDNA为模板, 可以很好地扩增8Kbp的DNA片段。

- 2) 以人基因组 DNA 为模板, 可很好的扩增 2.9Kbp 的 DNA 片段。
- 3) 以人基因组 DNA 为模板, 可在反应体系中目的基因为 100 拷贝的情况, 扩增出目的片段。
- 4) PCR 产物带有 3' A, 可以直接用于基于 T 载体的 PCR 片断克隆。

以 λDNA 为模板进行 PCR 扩增反应

1. 按下列组份配制 PCR 反应液 (50μl 反应体系)。

Ensure Taq	0.25 μl
10×buffer (without Mg <sup>2+</sup> )	5 μl
25mM MgCl <sub>2</sub> * <sup>1</sup>	3 μl
dNTP mixture(each 10mM)	1 μl
Template DNA(λDNA)* <sup>2</sup>	2.5ng
Forward Primer(20 μM)	1 μl
Reverse Primer(20 μM)	1 μl
Water (nuclease free)	Up to 50 μl

\*1 MgCl<sub>2</sub> 的不同浓度会影响 PCR 的反应性能, 一般情况下 MgCl<sub>2</sub> 的终浓度在在 1.0-2.5mM 之间, 推荐的初次使用浓度为 1.5mM.

\*2 50μlPCR 反应体系中模板 DNA 推荐加入量

人基因组 DNA	0.1 μg-1 μg
大肠杆菌基因组 DNA	10ng-100ng
λDNA	0.5ng-5ng
质粒 DNA	0.1ng-10ng

2. PCR 反应条件的设置需根据模板、引物、PCR 产物的长度和 GC 含量等条件的不同设定不同的 PCR 反应条件包括温度、时间和循环数等。
3. 通常情况下, 每 Kbp 产物的延伸时间为 1 分钟。如 PCR 产物的长度为 1Kbp, 则延伸时可以设置为 1 分钟, PCR 产物的长度为 2kbp, 则延伸时间可以设置为 2 分钟。