

Taq DNA Polymerase

REF: EG15109S

储运条件

-20°C保存

产品组成

组分	规格
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	200 μl
10× Taq Reaction Buffer	5×1 ml

产品简介

Taq DNA Polymerase 为来源于嗜热菌 *Thermus aquaticus*，经大肠杆菌重组表达纯化获得的耐热性 DNA 聚合酶，分子量为 94 kDa，与天然 Taq DNA 聚合酶具有相同的功能。该酶具有 5'→3' 聚合酶活性和 5'→3' 外切酶活性，但无 3'→5' 外切酶活性。PCR 产物的 3' 端带有突出的 A 碱基，可克隆至 T 载体。

活性定义

1 个活性单位 (U) 定义为 74°C 下，30 min 内催化 10 nmol dNTP 掺入酸不溶物所需的酶量。

质量控制

蛋白纯度检测

使用 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

核酸内切酶活性检测

将 5 U Taq DNA Polymerase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37°C 下，共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性检测

将 5 U Taq DNA Polymerase 与 15 ng 双链 DNA 片段在 37°C 温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

宿主 DNA 残留检测

使用大肠杆菌 16S rDNA 特异性引物探针组，采用荧光定量 PCR 法检测 5 U Taq DNA Polymerase，大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 1 copy。

使用方法

1. 建议的 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
Taq DNA Polymerase(5 U/μl)	0.25 μl	1.25 U/50 μl
10× Taq Reaction Buffer	5 μl	1×
dNTP(10 mM)	1 μl	0.2 mM
正向引物 (10 μM) ^a	1 μl	0.2 μM
反向引物 (10 μM) ^a	1 μl	0.2 μM
模板 DNA ^b	x μl	
ddH ₂ O	To 50 μl	

a. 引物推荐终浓度为 0.2 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 进行调整；引物长度请设定 18~25 bp，GC 含量为 40%~60%。

b. 不同模板最佳反应浓度有所不同，以 50 μl 体系为例：模板为基因组 DNA 时，一般使用量应在 10~400 ng；当模板为质粒或病毒 DNA 时，一般使用量应在 10 pg~20 ng。

2. 常规 PCR 反应程序

步骤	温度	时间
预变性 ^a	94°C	3~5 min
变性	94°C	30 s
退火	55~65°C	30 s
延伸	72°C	30~60 s/kb
终延伸	72°C	5 min

30~35 Cycles

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，对于一些复杂模板，例如：菌液、菌落（尤其是酵母）的 PCR 扩增，预变性时间可适当延长至 10 min，以提高预变性效果。

注：如果使用酵母菌液作为 PCR 扩增模板，建议目的片段长度不超过 2.5 kb；若超出 2.5 kb，建议将酵母菌液预先进行破壁处理。