

Taq DNA Polymerase (Mg²⁺ free buffer)

P102

Version 21.1



产品概述

本产品由克隆有 *Thermus aquaticus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌表达并经过多步纯化精制得到，不含核酸内切酶、核酸外切酶以及细菌DNA。Taq DNA Polymerase 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A，可克隆至T载体，并适用于ClonExpress和拓朴克隆试剂盒 (Vazyme #C112/C113/C115/C601)。

产品组分

组 分	P102-01 (1,000 U)	P102-02 (5,000 U)	P102-03 (10,000 U)
10 × Taq Buffer (Mg ²⁺ free)	4 × 1 ml		
25 mM MgCl ₂	4 × 1 ml	5 × P102-01	10 × P102-01
Taq DNA Polymerase (5 U/μl)	200 μl		

保存条件

-30 ~ -15°C 保存，≤0°C 运输。

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物等DNA的扩增反应。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，74°C 30 min内，摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测：10 U的本酶和0.6 μg λ-*Hind* III在37°C下孵育16 h，DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：10 U的本酶和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4 h，DNA的电泳谱带不发生变化。

RNase残留检测：10 U的本酶和1 μg HeLa细胞总RNA在37°C下孵育1 h，RNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌基因组残留检测：10 U本品中残留的核酸经*E. coli* 16S rDNA特异性的TaqMan qPCR检测，*E. coli*基因组残留低于10拷贝。

功能检测：50 μl PCR体系中加入1.25 U本酶，以100 ng人基因组DNA为模板扩增α-1-antitrypsin gene。30个循环后将1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳，EB染色，可见有单一的360 bp条带。

注意事项

操作注意事项

由于Taq DNA Polymerase在室温下也有一定的反应活性，PCR反应体系请在冰上进行配制，之后再置于PCR仪上进行反应。这样可以减少在反应准备阶段发生的非特异扩增，有助于得到高特异性的扩增结果。

引物设计

- 引物3'端最后一个碱基最好为G或者C；
- 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
- 引物3'端应避免出现发夹结构；

- 正向引物和反向引物的T_m值相差不超过1°C为佳，T_m值调整至55 ~ 65°C为佳(引物T_m值推荐使用Primer Premier 5进行计算)；
- 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物T_m值计算；
- 引物的GC含量控制在40% - 60%之间；
- 引物A、G、C、T整体分布要尽量均匀，避免使用GC或者AT含量高的区域；
- 避开引物内部或者两条引物之间有5个碱基以上的互补序列，两条引物的3端避免有3个碱基以上的互补序列；
- 引物设计完毕请使用NCBI BLAST功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

实验流程

反应体系

ddH ₂ O	To 50 μl
10 × Taq Buffer (Mg ²⁺ free)	5 μl
25 mM MgCl ₂ ^a	x μl
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
Primer1 (10 μM)	2 μl
Primer2 (10 μM)	2 μl
Template DNA ^b	x μl
Taq DNA Polymerase (5 U/μl) ^c	0.5 μl

▲当扩增片段GC含量>60%且优化条件也无法正常扩增时，推荐使用PCR Enhancer (Vazyme #P021) 来优化PCR反应。

a. 对于大多数PCR反应，Mg²⁺最佳终浓度为1.5 - 2 mM，即50 μl反应体系中加入3 - 4 μl 25 mM MgCl₂。如有需要，可用25 mM MgCl₂以0.2 - 0.5 mM为间隔摸索Mg²⁺最佳使用浓度。

b. 不同模板最佳反应浓度不同，下表为50 μl反应体系推荐模板使用量：

动植物基因组DNA	0.1 - 1 μg
大肠杆菌基因组DNA	10 - 100 ng
cDNA	1 - 5 μl (不超过PCR反应总体积的1/10)
质粒DNA	0.1 - 10 ng
λDNA	0.5 - 10 ng

c. 酶量可在0.25 - 1 μl之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量，但有可能会使特异性下降。

反应程序

95°C	3 min (预变性) ^a	} 30 - 35 cycles
95°C	15 sec	
60°C ^b	15 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	5 min (彻底延伸)	

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，可根据模板结构复杂程度修改。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至5 - 10 min以提高预变性效果；

b. 退火温度需要根据引物的T_m值进行调整，一般设置成低于引物T_m值3 ~ 5°C即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。