

Hieff[®] Taq DNA Polymerase DNA聚合酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff [®] Taq DNA Polymerase DNA聚合酶	10101ES80	1,000 U
	10101ES92	10,000 U

产品描述

Hieff[®] Taq DNA Polymerase 是嗜热性 *Thermus aquaticus* 表达的热稳定重组型 DNA 聚合酶, 分子量为 94 KD。具有 5'→3' 聚合酶活性和 5'→3' 外切酶活性, 无 3'→5' 外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA, 可直接用于 TA 克隆。

产品组分

编号	组分	产品编号/规格	
		10101ES80 (1,000 U)	10101ES92 (10,000 U)
10101-A	10×Taq Buffer (Mg ²⁺ Free)	4×1 mL	4×10 mL
10101-B	25 mM MgCl ₂	2×1 mL	2×10 mL
10101-C	Hieff [®] Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	200 μL	2×1 mL

产品应用

基因型鉴定、菌落 PCR 等常规 PCR。

活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 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 本品和 0.5 μg λDNA-Hind III, 37°C 下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

切口酶残留检测: 10 U 本品和 0.5 μg IL23R 质粒, 37°C 下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测: 10 U 本品和 0.5 μg 293T 细胞总 RNA, 37°C 下孵育 1 h, RNA 的电泳谱带无变化。

运输与保存方法

冰袋运输。-20°C 保存, 有效期 2 年。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 2) 本产品仅作科研用途!

PCR 反应体系（冰上配制）

组分	体积 (μL)	终浓度
ddH ₂ O	to 50	-
10×Taq Buffer (Mg ²⁺ Free)	5	1×
25 mM MgCl ₂	3	1.5 mM
dNTP Mix (10 mM each)	1 μL	0.2 mM
模板 DNA	optional	-
引物 1(10 μM)	2 μL	0.4 μM
引物 2(10 μM)	2 μL	0.4 μM
Hieff [®] Taq DNA Polymerase (5 U/μL)	0.4 μL	0.04 U/μL

【注】 : 1) **Mg²⁺ 终浓度**: Mg²⁺最佳浓度为 1.5-2 mM, 如有需要, 可 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索 Mg²⁺最佳使用浓度。

2) **聚合酶添加**: 室温下聚合酶有一定程度的 5'-3'聚合酶活性, 为了防止非特异性扩增, 建议将聚合酶在最后一步加到反应体系中。

3) **聚合酶浓度**: 推荐使用 0.04 U/μL。可以在 0.025-0.04 U/μL 之间进行优化。

4) **不同模板的推荐使用量 (50 μL 反应体系)** :

模板种类	扩增片段
基因组 DNA	50 ng-100 ng
质粒 DNA	10 pg-20 ng
cDNA	1-5 μL (不超过反应体系的 1/10)

PCR 扩增程序

循环步骤	温度 (°C)	时间	循环数
预变性	94	30 sec-5 min	1
变性	94	30 sec	} 35
退火	50-60	30 sec	
延伸	72	60 sec/kb	
终延伸	72	10 min	1

【注】 : 1) **预变性温度和时间**: 推荐使用 94°C。预变性推荐时间: 质粒 DNA 等简单模板为 30 sec; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 3 min; 高 GC 含量模板为 5-10 min。

2) **退火温度和时间**: 推荐使用 60°C, 也可根据需要, 设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间设置为 20 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。

3) **扩增产物**: 请将 PCR 扩增产物放置于 -20°C 保存, 防止 DNA 发生降解。