

Taq Plus DNA Polymerase

货号规格

货号	P1031	P1032*	P1033	P1034*
规格	250U	250U	1,000U	1,000U

* 含 dNTPs

产品简介

Taq Plus DNA Polymerase 是 Taq DNA 聚合酶与 Pfu DNA 聚合酶的独特比例混合物。其保真性是 Taq DNA 聚合酶的 4 倍，扩增片段的长度可达 20 kb（简单模板）。在扩增复杂模板（如 GC-rich 或重复序列）时，Taq Plus DNA Polymerase 的扩增效率高于 Taq DNA 聚合酶，可用于复杂模板的 PCR 扩增。延伸速度为 20s/kb(70~75℃, 简单模板可达 5s/kb)。扩增产物具有两种末端：平末端与 3'-dA。

产品组成

Component	P1031	P1032	P1033	P1034
Taq Plus DNA Polymerase (5U/μl) [1]	50 μl	50 μl	200 μl	200 μl
10× Tpol Buffer (Mg ²⁺ Plus) [2]	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 2	1.25 ml × 2
6× Loading Buffer [3]	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
dNTPs (2.5mM) [4]	-	1 ml	-	1 ml × 2

[1] 提供 5U/μl 和 2.5U/μl 两种活性单位的包装可供选择，如无特别说明默认 5U/μl。

[2] 10× Tpol Buffer 分为 Mg²⁺ Plus 与 Mg²⁺ Free 两种包装，可方便选择。如无特别说明提供 10× Tpol Buffer (Mg²⁺ Plus)。Mg²⁺ Free 的 10× Tpol Buffer 提供 25 mM MgSO₄。提供 5U/μl 和 2.5U/μl 两种活性单位的包装可供选择，如无特别说明默认 5U/μl。

[3] 6× Loading Buffer，如有需要可单独购买（Cat. #: M9041）。

[4] dNTPs 是 dATP、dGTP、dCTP 和 dTTP 等摩尔混合物，P1031/P1033 不含 dNTPs，如有需要请单独购买（Cat. #: P9011/P9012/P9013）。

活性定义

一个活性单位 (U) 指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

保存条件

-20℃ 保存 2 年。

质量控制

纯度检测：经质量检测，产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测：PCR 方法检测无宿主残余 DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系，体系大小与组分用量与添加顺序可调整：

Ordinal	Component	50-μl rxn	Final conc.
1	10× Tpol Buffer (Mg ²⁺ Plus)	5 μl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μl	0.2 mM
3	upstream primer (10 μM) [1]	2 μl	0.4 μM
4	downstream primer (10 μM) [1]	2 μl	0.4 μM
5	Taq Plus DNA Polymerase (5U/μl) [2]	0.5 μl	2.5U
6	template DNA [3]	1-4 μl	<1μg
7	超纯水 [4]	To 50 μl	-
optional	MgCl ₂ (MgSO ₄)/PCR Enhancer [5]	Variable	-

[1] 引物终浓度建议范围：0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度，效率低时可提高浓度。

[2] 根据目的片段扩增的难易程度调整酶的用量。

[3] 不同模板最佳用量不同，部分 DNA 模板建议用量如下表（50 μl 反应体系）。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1μg-1μg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水（Cat. #: P9021/P9022/P9023）。

[5] 可单独订购 25mM MgCl₂（Cat. #: P9031）和 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94°C	3 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	25-35
Annealing	55-68°C ^[1]	30 sec	
Extension	72°C	Variable ^[2]	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 20s/kb 来设最佳（简单模板可达 5s/kb）。

3. 分析结果

将产物与 loading buffer 混匀后进行琼脂糖凝胶电泳,通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要,可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有: 1 调整退火温度; 2 减少抑制剂的影响,如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分,需要高倍稀释(1: 10000)后使用; 3 采用乙醇沉降洗脱,提高模板 DNA 的纯度; 4 使用 PCR 添加剂,如 PCR Enhancer (Cat. #: P9041)、MgCl₂ (Cat. #: P9031) 等可提高产量。

操作注意事项

1 室温下 Taq Plus DNA Polymerase 有一定的活性,为避免发生非特异性扩增,请于冰上配置反应体系,并且最后添加 Taq Plus DNA Polymerase 或模板 DNA。

2 Taq Plus DNA Polymerase 的扩增产物有两种末端: 平末端和 3'-dA 突出末端。如要进行 TA 克隆,请先进行加 A 反应,以提高克隆效率。(加 A 反应:参考如下体系,72°C, 15-30min)

PCR (纯化) 产物	1-7 µl
10× Taq Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1 µl
dATP	0.2 mM
Taq DNA 聚合酶	5U
超纯水	To 10 µl

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间; 上下游引物 3' 末端避免互补, 避免出现 3 个以上重复

的 G 或 C, 或出现发夹结构, 否则会产生非特异性扩增; GC 含量控制在 40-60%, 且上下游引物 GC 含量尽量接近; Tm 值控制在 55-65°C 之间, 且上下游引物 Tm 值尽量接近, 额外附加序列(酶切位点、修饰等)是非模板匹配序列, 不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。