

## Taq-D DNA 聚合酶 (KlenTaq)

目录号：AE0121/AE0122

使用前请仔细阅读说明书

### 产品说明

Taq-D DNA 聚合酶 (KlenTaq)，是大肠杆菌重组表达的嗜热细菌 *Thermus aquaticus* 来源的外切酶缺失型 Taq DNA 聚合酶 (删除了 5' 外切酶结构域)。因此，本酶具有 5'→3' 聚合酶活性，无 5'→3' 外切酶活性和 3'→5' 外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 尾巴。扩增片段的长度可达 3 kb。延伸速度为 1.0 kb/min (72°C)。不可用于 Taqman 探针法 q-PCR。本酶尤其适合于溶解曲线法单核苷酸多态性 (SNP) 分型。

### 活性定义

以大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72°C、30 min 内，将 10 nmol 脱氧核糖核苷酸掺入到酸不溶物中所需的酶量，定义为一个活性单位 (U)。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 保存

### 特点

- 无外切酶活性，适合于溶解曲线法单核苷酸多态性 (SNP) 分型；
- 热稳定性好：95°C 下半衰期超过 40 min；
- 可以掺入 dUTP、dTTP、荧光标记核苷酸；
- 相比普通 Taq DNA 聚合酶，本酶更加适合未处理的血液、组织、唾液等样本的 PCR。

### 适用范围

- 溶解曲线法基因分型/SNP 测定；
- 血液、组织样本等直扩 PCR；
- DNA 荧光标记；
- 菌落 PCR；
- TA 克隆 PCR 产物添加 3'-dA。

### 产品包装规格及组成

Component	AE0121A/ AE0122A*	AE0121B/ AE0122B*	AE0121C/ AE0122C*	AE0121D/ AE0122D*
Taq-D DNA polymerase	500U	500U×5	2500U×4	2500U×10
10×Taq-D Buffer	1.0 ml×1	1.0 ml×5	5.0 ml×4	5.0 ml×10
2 mM dNTPs	-/1.0 ml×1	-/1.0 ml×5	-/5.0 ml×4	-/5.0 ml×10

\*附带 2mM dNTP 混合物。

### 质量控制

相关测试表明无外源内切酶或外切脱氧核糖核酸酶污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。室温放置一周，扩增活性无明显改变；但强烈建议不要在室温下长期放置，用毕放回 -20 度。

### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Nonidet P40, 0.5% Tween 20, and 50% glycerol.

## 应用举例

以下反应举例为 50  $\mu$ l 标准 PCR 体系，仅供参考。实际 PCR 条件应根据模板、引物、目的片段大小加以优化，确定最佳反应条件。

组份	体积/ $\mu$ l	终浓度
10 $\times$ Taq-D Buffer	5	1 $\times$
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物 F (10 $\mu$ M)	1.5	0.3 $\mu$ M
引物 R (10 $\mu$ M)	1.5	0.3 $\mu$ M
Template	Variable*	/
Taq-D (5U/ $\mu$ l)	0.5	2.5U
ddH <sub>2</sub> O	Variable	/
总体积	50	/

\*DNA template 可参照如下标准 (50  $\mu$ l PCR 体系)：

- 人类基因组 DNA 0.1  $\mu$ g-1  $\mu$ g
- $\lambda$ DNA 0.5 ng-5 ng
- 质粒 DNA 0.01 ng-1 ng
- 大肠杆菌 DNA 10 ng-100 ng

## PCR 反应条件

95 $^{\circ}$ C	5 min	} 30 Cycles
95 $^{\circ}$ C	15 sec	
55~72 $^{\circ}$ C	20 sec	
72 $^{\circ}$ C	1-2 kb/min	
72 $^{\circ}$ C	5 min	

## 注意事项

- **不可用于 Taqman 探针法 q-PCR。**
- 碱基出错率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。Taq-D DNA 聚合酶的碱基错误率为  $1 \times 10^{-5}$ 。
- 建议在冰上配置 PCR 反应液后，再放入 PCR 仪中进行扩增。这有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增，得到良好的 PCR 结果。
- 如进行 PCR 扩增后，除目的条带外，还伴随其他杂带，建议适当减少体系中的酶用量，以增加 PCR 扩增反应的特异性。
- 本公司 Buffer 经大量 PCR 反应实例优化而成，然而对某些 PCR 反应存在一个最优的镁离子浓度。若需要优化镁离子浓度，请购买本公司不含镁离子的 Buffer 和 MgCl<sub>2</sub>/MgSO<sub>4</sub>。

**警告：**本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。