

Taq Plus DNA 聚合酶

Cat. #: P1031, P1032, P1033, P1034

产品简介

Taq Plus DNA 聚合酶是 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 聚合酶的扩增效率高于 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
	250U	250U	1,000U	1,000U
Taq Plus DNA 聚合酶 (5U/μl) ^[1]	50 μl	50 μl	200 μl	200 μl
Taq Plus DNA 聚合酶 (2.5U/μl) ^[1]	100 μl	100 μl	400 μl	400 μl
10× Tpol Buffer (Mg ²⁺ Plus) ^[1]	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml × 4	1.25 ml × 4
6× Loading Buffer ^[2]	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
dNTPs (2.5mM) ^[3]	-	1 ml	-	1 ml × 4

[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，P1011/P1013 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	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	10× Tpol Buffer (Mg ²⁺ Plus)	5 μl	1×
2	dNTPs (2.5mM)	4 μl	0.4 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 聚合酶 (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 ^[6]	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	Dosage
人类基因组 DNA	0.1μg-1μg

λDNA	0.5ng-5ng
大肠杆菌基因组 DNA	10ng-100ng
质粒 DNA	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 T_m 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 聚合酶有一定的活性, 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 聚合酶或模板 DNA。

2 Taq Plus DNA 聚合酶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; T_m 值控制在 55-65°C 之间, 且上下游引物 T_m 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 T_m 值计算。

相关产品

名称	货号	规格
PCR Mix	P2011/P2012/P2013/P2014/P2015	1ml/5ml/10ml/50ml/100ml
Power Green qPCR Mix	P2101/P2102/P2103/P2104/P2105	1ml/5ml/10ml/50ml/100ml
1kb ladder	M1181/M1182	50 次/250 次
DST TM 5000	M1111/M1112	60 次/300 次
高纯度质粒小提试剂盒	N1011/N1012/N1013	50 次/100 次/200 次
通用 RNA 提取试剂盒	R1051	50 次
基因组 DNA 快速提取试剂盒	N1111/N1112	50 次/100 次
DNA 凝胶回收试剂盒	N1071/N1072/N1073	50 次/100 次/200 次
RT-PCR Kit	R1011/R1012	20 次/100 次

更多 PCR 酶、DNA Marker 及核酸提纯类产品请登录东盛生物官网查询。