

产品组分

组分名称	组分编号	250 U	1,000 U
Taq DNA Polymerase M101 (5,000 U/mL)	RM29000	50 μ L	200 μ L
4X qPCR Probe Buffer	RM21210	1 mL	1 mL \times 3

*****, 注: 4X qPCR Probe Buffer 仅作为 Taq DNA Polymerase M101 的反应液使用。

产品说明

Taq DNA Polymerase M101 理论分子量为 94 kD, 具有 5'-3'聚合酶活性和 5'-3'核酸外切酶活性, 无 3'-5'核酸外切酶活性。PCR 产物 3'含有单 dA 核苷酸突出末端, 可以用于 dT / dU 末端载体的连接。本产品可应用于 PCR 扩增与 DNA 序列测定, 同时适用于 qPCR 与 RT-qPCR。

保存温度

-20°C

产品来源

Thermus aquaticus YT-1 的 Taq DNA 聚合酶基因在大肠杆菌中诱导表达并分离纯化得到。

活性定义

1 活性单位(U)指在 75°C 30 min 内, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶性物质所需的酶量。

酶存储液

10 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Tween 20, 0.5% NP-40, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

操作说明

1. 推荐的 PCR 反应如下:

PCR 反应体系 (以 50 μ L 反应体系为例) *

组分	加入量
ddH ₂ O	to 50 μ L
4X qPCR Probe Buffer	12.5 μ L
上游引物 (10 μ M)	1 μ L
下游引物 (10 μ M)	1 μ L
DNA 模板	Variable
Taq DNA Polymerase M101**	1 μ L

*****, 注: 温和混匀反应体系, 如有必要可以通过短暂快速离心将试剂收集到管底。若使用无热盖的 PCR 仪, 可以在反应体系表面覆盖一层矿物油防止溶液蒸发。

******, 注: 50 μ L 反应体系中, Taq DNA Polymerase M101 的加入量根据实际情况可以在 1-25 U 范围内进行调整。

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	15-30 s	25-40*
退火	45-68°C	15-60 s	
延伸	68°C**	60 s/kb	
终延伸	68°C	5 min	1
Hold	4-10°C	∞	1

*，注：一般进行 25-40 个循环即可得到充足的 PCR 产物，若需要检测低拷贝基因，可以将循环数增至 45。

**，注：推荐使用 68°C 的延伸温度，延伸时间与扩增片段长度有关，可以按照 60 s/kb 的扩增速度计算扩增时间；在 PCR 循环结束之后，需要在 68°C 条件下再延伸 5 min。