## 产品组分

| 组分名称 | 组分编号 | 1,000 U | 5,000 U |
|---|---|---|---|
| HS *Taq* DNA Polymerase (50,000 U/mL) | RM29252 | 20 μL | 100 μL |
| 5X TaqPol Reaction Buffer ($Mg^{2+}$ plus) | RM20868 | 1 mL | 1 mL × 5 |

## 产品说明

HS *Taq* DNA Polymerase 是抗体封闭的热稳定聚合酶，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。本产品在室温条件下聚合酶活性完全被抑制，避免了在配制 PCR 反应体系等操作过程中产生非特异性扩增和引物二聚体。在 95°C 预变性过程中，抗体会变性失活并释放出 *Taq* DNA 聚合酶的活性，该步骤不仅不会影响后续的 PCR 反应，还会增加 PCR 的特异性，适用于 PCR 与 qPCR 实验。本品浓度较高，可配合无甘油稀释液（ABclonal RM29481）使用，用于冻干体系。

## 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 μL 反应体系为例）***

| 组分 | 加入量 |
|---|---|
| $ddH_2O$ | to 50 μL |
| 5X TaqPol Reaction Buffer ($Mg^{2+}$ plus) | 10 μL |
| dNTPs (10 mM each)* | 1 μL |
| 上游引物（10 μM） | 1 μL |
| 下游引物（10 μM） | 1 μL |
| DNA 模板 | Variable |
| HS *Taq* DNA Polymerase (50,000 U/mL)** | 5 U |

*，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；dNTPs 可根据实际情况进行调整，当前体系 1X 浓度为 0.2 mM。

**，注：50 μL 反应体系中，HS *Taq* DNA Polymerase (50,000 U/mL)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℃ | 5 min | 1 |
| 变性 | 95℃ | 15-30 s | 25-40* |
| 退火 | 45-68℃ | 15-60 s | |
| 延伸 | 68℃** | 60 s/kb | |
| 终延伸 | 68℃ | 5 min | 1 |
| Hold | 4-10℃ | ∞ | 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℃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℃条件下再延伸 5 min。