

产品简介

本产品包含最新升级版的 Taq DNA Polymerase，比普通 Taq 酶具备更高的保真度。Taq Plus DNA Polymerase 具有更强的扩增性能。一般情况下，使用 Taq Plus DNA Polymerase 可以得到更高的产量。该产品不含核酸内切酶、核酸外切酶以及细菌 DNA。Taq DNA Polymerase 具有 5'→3'聚合酶活性和 5'→3'外切酶活性，但无 3'→5'外切酶活性。PCR 产物的 3'端带 A，可克隆至 T 载体，并适用于本公司 CloneUFO®快速克隆试剂盒。

产品组成

组 分	100 U	250 U	1,000 U	3,000 U
10 × Taq Plus Buffer (Mg ²⁺ plus)	1 ml	1 ml	4 × 1 ml	3 × 1,000 U
ATG® Taq Plus DNA Polymerase (2.5U/μl)	40 μl	100 μl	400 μl	

储存条件

-20°C保存，于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74°C 30 分钟内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测：20 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 74°C下孵育 1 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：20 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37°C温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测：20U 本品和 1 μg Hela 细胞总 RNA 在 37°C下孵育 30min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测：50 μl 体系中，以 ddH₂O 为模板，扩增 *E. coli* 16srDNA 基因。30 个循环后进行 1%琼脂糖凝胶电泳，染色，无扩增条带。

功能检测：以 10 ng λDNA 为模板扩增 30 个循环，1%琼脂糖凝胶电泳，染色，可见各自单一的目的条带。

实验方案

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	To 50 μ l
10 \times Taq Plus Buffer (Mg ²⁺ plus)	5 μ l
25 mM MgCl ₂ * ¹	optional
dNTP Mix (10 mM each)	1 μ l
5 \times PCR Enhancer* ²	optional
模板 DNA* ³	optional
引物 1(10 μ M)	2 μ l
引物 2(10 μ M)	2 μ l
ATG [®] Taq Plus DNA Polymerase (2.5 U/ μ l)	1 μ l

*1 对于大多数 PCR 反应，Mg²⁺最佳终浓度为 1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为 2 mM 的 Mg²⁺，如有需要，可用 25 mM MgCl₂ 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索 Mg²⁺最佳使用浓度。

*2 推荐仅当扩增片段 GC 含量 > 60% 且优化条件也无法正常扩增时使用；可能会降低保真度

*3 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50 μ l 反应体系推荐模板使用量：

人基因组 DNA	0.1~1 μ g
大肠杆菌基因组 DNA	10~100 ng
λ DNA	0.5~10 ng
质粒 DNA	0.1~10 ng

*4 酶量可在 0.5-1.5 μ l 之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量，但有可能会使特异性下降。

2. PCR 反应条件设置

94°C	5 min(预变性)	
94°C	30 sec	30-35 cycles
55°C*	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min(彻底延伸)	

* 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度 1-2°C 即可。

引物设计注意事项

1. 引物 3' 端最后一个碱基选择 C 或 G；
2. 引物 3' 端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物 3' 端尽量避免出现发夹结构；
4. 引物 T_m 值控制在 55°C-65°C 之间；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物 T_m 值计算；
6. 引物 GC 含量控制在 40%-60% 之间；
7. 正向引物和反向引物 T_m 值以及 GC 含量尽可能一致。