



Es Taq DNA Polymerase

目录号：CW0688S (500 U) CW0688M (2500 U) CW0688L (10000 U)

保存条件：-20°C

产品内容

Component	CW0688S 500 U	CW0688M 2500 U	CW0688L 10000 U
Es Taq DNA Polymerase, 5 U/ μ L	100 μ L	5 \times 100 μ L	2 \times 1 mL
10 \times PCR Buffer	1.8 mL	5 \times 1.8 mL	8 \times 5 mL

产品简介

Es Taq DNA Polymerase是Taq与Pfu DNA Polymerase的优化混合酶，具有5'→3' DNA聚合酶活性、5'→3' 外切酶和3'→5' 外切酶活性。与Taq DNA Polymerase相比，Es Taq DNA Polymerase具有扩增效率高、错配率低的优良性能，能高效率扩增DNA片段。使用本品扩增得到的大部分PCR产物3'端附有一个“A”碱基，可直接用于T/A克隆。本产品适用于常规PCR反应和对高保真性有要求的基因克隆等反应。

活性定义

用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，在74°C，30分钟内，将10 nmol脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为1个活性单位 (U)。

质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE检测其纯度大于99%；经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一个月，无明显活性改变。

使用方法

以下举例为以人基因组DNA为模板, 扩增1 kb的片段的PCR反应体系和反应条件, 实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ L反应体系	终浓度
10 \times PCR Buffer	5 μ L	1 \times
dNTP Mix, 10 mM each	1 μ L	200 μ M each
Forward Primer, 10 μ M	2 μ L	0.4 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	2 μ L	0.4 μ M
Template DNA	<0.5 μ g	<0.5 μ g/50 μ L
Es Taq DNA Polymerase, 5 U/ μ L	0.25-0.5 μ L	1.25-2.5U/50 μ L
ddH ₂ O	up to 50 μ L	

注意: 引物浓度请以终浓度0.1-1.0 μ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。

2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	94 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s	} 25-35个循环
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	

注意:

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度 T_m 低5 $^{\circ}$ C, 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定, 本产品Es Taq DNA Polymerase的扩增效率为2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少, 扩增量不足; 如果循环次数太多, 错配机率会增加, 非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。