

仅限于实验室研究和体外实验研究。

## Axygen Taq 酶

### 产品说明书

#### 产品组成: AP-TAQ-M-5

Taq polymerase 500U (5 U/μl)	100 l
10xPCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> -Free)	2×1.2 ml
25 mM MgCl <sub>2</sub> Buffer	2×1.2 ml
dNTP Mixture (各 10 mM)	400 μl

#### 产品组成: AP-TAQ-5

Taq polymerase 500U (5 U/μl)	100 l
10xPCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> -plus)	2×1.2 ml
dNTP Mixture (各 10 mM)	400 μl

注: 经常使用避免反复冻融。

#### 产品说明:

本制品是 94KDa 的耐热性 Taq DNA 聚合酶(简称 Taq 酶)。基因来源为 *Thermus aquaticus* DNA polymerase, 将其克隆到大肠杆菌中进行表达后, 经分离提取而得到的。其具有与天然 Taq DNA 聚合酶相同的功能。Taq 酶可以催化 5'至 3'方向的依赖于 DNA 模板的脱氧核苷酸的聚合。Taq 酶不具有 3'到 5'的外切酶活性。

#### 活性定义:

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 74°C 下, 30 分钟内, 将 10nmol 的全核苷酸转化为酸性不溶物所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

#### 纯度:

- 1) 将 10U 的酶与 1 g DNA 在 50 l 反应体系中, 25°C 反应 8 小时, 45°C 反应 4 小时, 74°C 反应 4 小时, DNA 电泳条带不发生变化。
- 2) 将 10U 的酶与 1 g 超螺旋 DNA( X174 RFI DNA) 在 50 μl 反应体系中, 25°C 反应 8 小时, 45°C 反应 4 小时, 74°C 反应 4 小时, DNA 电泳条带不发生变化。
- 3) 将 10U 的酶与 1 g RNA 在 50μl 反应体系中, 37°C 反应 1 小时, RNA 电泳条带不发生变化。

#### PCR 性能:

- 1) 以人基因组为模板, 可很好地扩增 2.4kbp 的 DNA 片段(单拷贝 A1AT 基因)。

- 2) 以 DNA 为模板, 可很好地扩增 7.0kbp 的 DNA 片段。

#### 用途:

常规 PCR、RT-PCR、qPCR 扩增 DNA; DNA 测序。

#### 参考配制:

以 DNA 为模板进行 PCR 扩增反应

按 AP-TAQ-M-5 组份配制 PCR 反应液

Axygen Taq 酶 (5 U/ l)	0.25 μl
10xPCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> -Free)	5 μl
25mM MgCl <sub>2</sub> Buffer	4 μl
dNTP Mixture (各 10 mM)	1 μl
引物 1 (20 M)	0.5 μl
引物 2 (20 M)	0.5 μl
模板 DNA ( DNA)	1 ng
水	补足至 50 l

#### 50 μl PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量

人基因组 DNA	3.3ng~33ng
大肠杆菌基因组 DNA	10 ng~100 ng
DNA	0.5 ng~5 ng
质粒 DNA	0.1 ng~10 ng

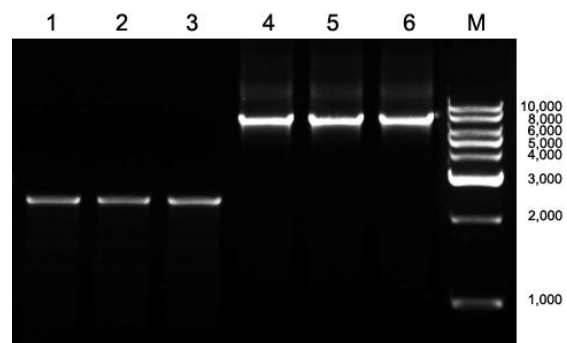
#### PCR 反应条件

以 DNA 为模板, 扩增 7kbp 的 DNA 片段的 PCR 反应条件如下:

94°C 5min.	} 35 Cycles
94°C 30 sec.	
60°C 30 sec.	
72°C 3 min.	
72°C 10 min.	

注: PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段大小、碱基序列和引物长短等具体情况, 设定最佳的反应条件(温度、时间等)。

#### PCR 结果



M: High Range Marker (Cat# M-DNA-HR)

Lane 1, 2, 3: 2.4Kbp 人基因组 PCR 扩增产物

Lane 4, 5, 6: 7Kbp DNA PCR 扩增产物

常见问题分析:

	原因	建议
模板 PCR 条带弱或者无条带	高 GC 含量模板	加入终浓度为 8%的 DMSO 或者减少酶的用量。
	模板中含有抑制反应的杂质	需纯化模板。
	模板变性不充分	适当延长变性时间; 对高 GC 或复杂结构模板, 提高起始变性温度。
	模板浓度偏高/偏低/模板降解	需检测模板浓度后调整用量, 模板降解则需重新制备。
	酶量不足	可适当提高酶用量至 2U/50 l 反应体系; 如有必要, 可梯度提升 Taq 酶量。
	Mg <sup>2+</sup> 浓度过低	适当提高 Mg <sup>2+</sup> 浓度, 针对不同模板和引物摸索最佳 Mg <sup>2+</sup> 浓度。
	退火温度偏高	降低退火温度, 应比引物 Tm 低 2 至 5℃。
	循环次数不足/延伸时间不足	增加循环数或增加延伸时间, 特别是针对长片段扩增。
	引物存在二级结构	重新设计引物, 避免二级结构和二聚体; 优化退火温度。
	引物浓度不足	调整引物浓度; 正反引物浓度要一致, 一般为 0.1-0.6 M。
	引物降解	引物应高浓度小量分装, -20℃保存, 避免反复冻融。
	缓冲液失效	更换缓冲液或使用预混 PCR 反应体系。
	dNTP 降解	-20℃保存, 小量分装, 避免反复冻融。
PCR 管污染	质量可靠的 PCR 管通常不需灭菌, 否则应先高温高压灭菌处理; 避免重复使用。	
PCR 仪故障	检查程序和模块温度。	
PCR 非特异性条带过多	退火温度过低	提高退火温度。
	延伸时间过短	增加延伸时间。
	循环次数过多	减少循环次数。
	引物浓度过高/序列特异性差	适当减少引物浓度或重新设计引物。
	模板浓度过高	梯度稀释模板。
	Mg <sup>2+</sup> 浓度过高	降低 Mg <sup>2+</sup> 浓度, 针对不同模板和引物摸索最佳 Mg <sup>2+</sup> 浓度。
	酶量过多	适当减少酶量。
	体系污染	设计对照实验寻找污染源, 操作时应注意避免交叉污染。
假阳性	目标片段与非特异扩增片段间存在同源性	设计阴性对照, 确认为引物问题后重新设计引物。
	目标片段或者引物太短	需重新设计引物。
	体系污染	设计对照实验寻找污染源, 操作时应注意避免交叉污染。
拖尾严重	引物序列特异性差/模板上存在同源序列	重新设计引物。
	模板不纯或降解	重新制备模板。
	dNTP 浓度过高	减少 dNTP 用量。
	Mg <sup>2+</sup> 浓度过高	降低 Mg <sup>2+</sup> 浓度, 针对不同模板和引物摸索最佳 Mg <sup>2+</sup> 浓度。
	酶量过多	需减少酶量。
	变性温度过低/退火温度过低	提高变性温度或退火温度。
	延伸时间过长	缩短延伸时间。
	循环次数过多	减少循环次数。
体系污染	设计对照实验, 消除污染源。	