

天
净
沙
系
列

CAT#:11-990501
低温运输, -20℃保存

BINGENE

Tth DNA 聚合酶

Tth DNA Polymerase

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	本酶是来源于嗜热菌 <i>Thermus thermophilus</i> HB8 的耐热 DNA 聚合酶，它具有下列特点： 1. 在有 Mg²⁺等二价阳离子存在的情况下，具有 DNA 多聚酶活性，与 Taq 酶一样被广泛用于 PCR 反应。 2. 本酶具有 RTase 活性，在 Mn²⁺存在的情况下，此活性增强。故可用于一管式 RT PCR。由于 RT 可以在较高的温度下（跟 AMV 和 MMLV 相比较而言）进行逆转录，引物非特异结合少，二级结构影响小，故 RT 的特异性更高。 3. 耐热性比 Taq 酶高，适用于高 GC 含量模板。 4. 基本上没有 3'→5'外切酶活性，故可用于双脱氧法测序。 5. 具有 5'→3'外切酶活性，故可用于 TaqMan 探针法 PCR。 6. PCR 产物末端有随机加 A 现象，故可通过 T 载体进行 TA 克隆。 7. 本产品只能用于科研。																								
规格及成分	本产品采用塑料袋包装 <table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>Tth DNA 聚合酶(5U/μL)</td><td>11-990501a</td><td>50μL（红盖管）</td></tr><tr><td>10×Tth Buffer(含 MgCl₂)</td><td>11-990501b</td><td>1mL（绿盖管）</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>11-990501sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编 号	包装材料	Tth DNA 聚合酶(5U/μL)	11-990501a	50μL（红盖管）	10×Tth Buffer(含 MgCl ₂)	11-990501b	1mL（绿盖管）	使用手册	11-990501sc	1 份												
成 份	编 号	包装材料																							
Tth DNA 聚合酶(5U/μL)	11-990501a	50μL（红盖管）																							
10×Tth Buffer(含 MgCl ₂)	11-990501b	1mL（绿盖管）																							
使用手册	11-990501sc	1 份																							
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。																								
使用方法	1. 以 λ DNA 为模板，以 10×Tth Buffer (+ MgCl₂)作为缓冲液进行体积为 50 uL 的 PCR 扩增反应为例，按下列组份配制 PCR 反应液。 <table><tr><th>成份</th><th>终浓度</th><th>用量</th></tr><tr><td>Tth DNA 聚合酶(5U/μL)</td><td>1.25U</td><td>0.25μL</td></tr><tr><td>10×Tth Buffer (含 MgCl₂)</td><td>1 ×</td><td>5μL</td></tr><tr><td>dNTP Mixture（各 2.5 mM）</td><td>各 0.2 mM</td><td>4μL</td></tr><tr><td>自备模板 DNA</td><td>50 pg-1μg</td><td>详见后注</td></tr><tr><td>自备引物 1（10 μM）</td><td>0.1-1μM</td><td>最多到 1μL</td></tr><tr><td>自备引物 2（10 μM）</td><td>0.1-1μM</td><td>最多到 1μL</td></tr><tr><td>灭菌蒸馏水</td><td></td><td>加到 50μL</td></tr></table> 注：推荐 50μL PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量为哺乳动物基因	成份	终浓度	用量	Tth DNA 聚合酶(5U/μL)	1.25U	0.25μL	10×Tth Buffer (含 MgCl ₂)	1 ×	5μL	dNTP Mixture（各 2.5 mM）	各 0.2 mM	4μL	自备模板 DNA	50 pg-1μg	详见后注	自备引物 1（10 μM）	0.1-1μM	最多到 1μL	自备引物 2（10 μM）	0.1-1μM	最多到 1μL	灭菌蒸馏水		加到 50μL
成份	终浓度	用量																							
Tth DNA 聚合酶(5U/μL)	1.25U	0.25μL																							
10×Tth Buffer (含 MgCl ₂)	1 ×	5μL																							
dNTP Mixture（各 2.5 mM）	各 0.2 mM	4μL																							
自备模板 DNA	50 pg-1μg	详见后注																							
自备引物 1（10 μM）	0.1-1μM	最多到 1μL																							
自备引物 2（10 μM）	0.1-1μM	最多到 1μL																							
灭菌蒸馏水		加到 50μL																							

	组 DNA0.5-1 ug，酵母基因组 DNA 5-500 ng，细菌基因组 DNA 0.5-50 ng，质粒 DNA 5-500 pg，PCR 回收片段 1-100 pg。 2. PCR 反应条件：以 1 DNA 为模板，扩增 1 kbp 的 DNA 片段的 PCR 反应条件为 95℃3 min，(95℃ 30 sec.，55℃30 sec.，72℃2 min.) 30-35 个循环，72℃5 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、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况，设定最佳的反应条件（温度、时间等）。																														
相关资料	一：10×Tth Buffer (含 MgCl₂)组成 <table><tr><th>成份</th><th>浓度</th></tr><tr><td>Tris-HCl(pH8.9 at 25 °C)</td><td>100 mM</td></tr><tr><td>KCL</td><td>800 mM</td></tr><tr><td>MgCl₂</td><td>15 mM</td></tr><tr><td>Triton X-100</td><td>1%</td></tr><tr><td>BSA</td><td>5mg/mL</td></tr><tr><td>胆酸钠</td><td>1%</td></tr></table> 二：Tth Storage Buffer 组成 <table><tr><th>成份</th><th>浓度</th></tr><tr><td>Tris-HCl(pH7.5 at 25 °C)</td><td>10 mM</td></tr><tr><td>KCl</td><td>300 mM</td></tr><tr><td>DTT</td><td>1 mM</td></tr><tr><td>EDTA</td><td>0.1 mM</td></tr><tr><td>Triton X- 100</td><td>0.1%</td></tr><tr><td>BSA</td><td>500µg/mL</td></tr><tr><td>甘油</td><td>50%</td></tr></table>	成份	浓度	Tris-HCl(pH8.9 at 25 °C)	100 mM	KCL	800 mM	MgCl ₂	15 mM	Triton X-100	1%	BSA	5mg/mL	胆酸钠	1%	成份	浓度	Tris-HCl(pH7.5 at 25 °C)	10 mM	KCl	300 mM	DTT	1 mM	EDTA	0.1 mM	Triton X- 100	0.1%	BSA	500µg/mL	甘油	50%
成份	浓度																														
Tris-HCl(pH8.9 at 25 °C)	100 mM																														
KCL	800 mM																														
MgCl ₂	15 mM																														
Triton X-100	1%																														
BSA	5mg/mL																														
胆酸钠	1%																														
成份	浓度																														
Tris-HCl(pH7.5 at 25 °C)	10 mM																														
KCl	300 mM																														
DTT	1 mM																														
EDTA	0.1 mM																														
Triton X- 100	0.1%																														
BSA	500µg/mL																														
甘油	50%																														
关联产品	双酶一管式 RT-PCR 试剂盒																														