

KOD DNA Polymerase 产品说明书 v1.2

产品信息

产品名称	Cat#	规格
KOD DNA Polymerase, 5 U/μL	F113A01	50 μ L
	F113A02	100 μ L
	F113A03	200 μ L
	F113A04	500 μ L

产品描述

来自极端耐热古生菌 *Thermococcus kodakaraensis* (KOD) 的 DNA 聚合酶一种新的高保真快速耐热 DNA 聚合酶,该酶的扩增速度更是 Pfu DNA 聚合酶的 4 倍, 保真性更好, 耐热温度更高, 是效率最高的热稳定 DNA 聚合酶。KOD DNA 聚合酶具有 3'-5' 外切酶活性, 即校正功能, 保证能快速地识别并纠正错误掺入的核苷酸。本品没有 5'-3' 外切活性。

特征

优良的保真性

实际测序结果表明, 在 KOD DNA Polymerase 的 PCR 过程中, 产生碱基错配的频率更低, KOD DNA Polymerase 的保真性是 Taq DNA Polymerase 或其他公司 Long PCR 用酶的约 20 倍以上。

出色的延伸性 (扩增可能链长)

以 λ DNA 为模板可以扩增出 40kb, 以人基因组 DNA 为模板可扩增出 24kb, 以 cDNA 为模板可扩增出 12kb。

超群的扩增效率

与以往的 PCR 酶相比, 得率大幅提高, 因此即便模板量很少也可进行扩增。

高可靠性 (PCR 成功率)

对高 GC 含量的目的片段、全血等可直接扩增, PCR 成功率非常高

产品组分

组分	F113A01	F113A02	F113A03	F113A04
KOD DNA Polymerase	50 μ L	100 μ L	200 μ L	500 μ L
5 \times PCR Buffer	500 μ L	500 μ L	1 mL	1 mL*3

PCR 实验步骤

(1) PCR 反应液的配制

配制反应液前, 请充分混匀除 KOD DNA Polymerase 以外的各试剂。冻结的试剂请于完全解冻后再使用。

(2) 反应体系 (50 μL/反应)

组分	终浓度	用量
5×PCR Buffer	1 ×	10 μL
dNTP Mix	200 μM	1 μL
上游引物	0.2 μM	1 μL
下游引物	0.2 μM	1 μL
DNA 模板	—	x μL
KOD DNA Polymerase	0.04U/μL	0.4 μL
无菌水	—	Up to 50 μL

推荐模板用量

模板种类	推荐用量
基因组 DNA	10 ng-200 ng
质粒或病毒 DNA	10 pg-50 ng
cDNA	1-5 μL (不超过 PCR 总体积的 1/10)

(3) 反应程序
① 三步法 PCR

步骤	温度	时间
1 循环	热激活	95°C
	变性	95°C
25~35 循环	退火*	55~72°C
	延伸*	72°C
1 循环	终延伸	72°C
	HOLD	4°C

*根据引物 T_M 值设置退火温度，如引物的 T_M 值 $\geq 72^\circ\text{C}$ ，可删除退火步骤，直接进行后续的延伸步骤（两步法 PCR），如果需要，可建立一个温度梯度，寻找引物与模板结合的最适温度。另外，退火温度直接决定扩增特异性，如发现扩增特异性差，可适当提高退火温度。
 *对于大多数模板，30s/kb 即可有效扩增，对于一些复杂模板，可提高延伸时间至 30~60s/kb

② 两步法 PCR

步骤	温度	时间
1 循环	热激活	95°C
	变性	95°C
25~35 循环	退火&延伸	65~68°C
1 循环	终延伸	72°C
	HOLD	4°C

运输和储存

本产品干冰运输，可在-15°C~ -25°C保存两年。

注意事项

- ◆ 请不要使用含尿嘧啶的引物和模板。
- ◆ 为了提高扩增成功率和产量，请使用高质量的模板。
- ◆ 可室温溶解，溶解后宜存放于冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即置于-20°C 保存。
- ◆ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。