天净沙系列

CAT#:901002

低温运输，-20℃保存

天净沙

KOD DNA 聚合酶 5 U/μL

Skygen KOD DNA Polymerase 5 U/μL

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

KOD DNA 聚合酶是从克隆有 *Thermococcus kodakaraensis* DNA 聚合酶基因的质粒在大肠杆菌中经诱导表达分离纯化而来。该酶具有强 3′ →5′ 外切酶活性，扩增保真性高于 Pfu DNA 聚合酶，约为 Taq 的 50 倍；同时合成速度快，聚合速度约为普通 Pfu DNA 聚合酶的 5 倍、Taq DNA 聚合酶的 2 倍，可达 100 – 138 bp/秒，可在短时间内获得高产量的扩增产物。它具有下列特点:

1. 高保真：保真度为常规 Taq 酶的 50 倍
2. 聚合速度快: 约为普通 Pfu DNA 聚合酶的 5 倍、Taq DNA 聚合酶的 2 倍，可达 100 – 138 bp/秒
3. 适合高保真扩增 6 kb 以内的 PCR 产物，扩增产物为平末端，可用于基因克隆、表达及突变分析等分子生物学实验。
4. 活性定义:75℃活性测定条件下,在 30 min 内摄入 10 n moles 的 dNTPs 使成为酸性不溶物时所需要酶的活性定义为 1 U。
5. 本产品仅用于科研

规格及成分

本产品采用塑料袋包装

成 份	编 号	规 格	包装材料
KOD DNA 聚合酶 5 U/μL	901002	50 μL	0.5 mL 黄盖管
10× KOD DNA 聚合酶 缓冲液	901002a	500 μL	0.5 mL 本色管
使用手册	901002sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存、有效期 2 年。

相关资料

1．反应体系（50 μL）：

组分	体积	终浓度
模板	Variable	＜0.5 μg
上游引物 10 μM	1.0 μL	0.2 μM
下游引物 10 μM	1.0 μL	0.2 μM
10× KOD DNA 聚合酶 缓冲液	5.0 μL	1×
DNTP 模版混合液 (每个 10 mM)	1.0 μL	0.2 mM
KOD DNA 聚合酶 5 U/μL	0.25-0.5 μL (1.25-2.5 U)	-

dH2O	至 50 μL	

2. 用无菌 PCR 级别的水补至终体积 50 μL。实际操作中计算好需补加水的量后，建议先加水，然后按上述顺序添加其它成分，最后添加 KOD DNA 聚合酶 5 U/μL。充分混匀后，离心数秒使反应混合物沉到管底。然后将反应管置于 PCR 仪中进行扩增。

PCR 条件优化

3. 质粒或者噬菌体模板：模板量 5-20 ng，循环参数如下表

步骤	＜1 kbp 目标 DNA	1-2 kbp 目标 DNA	3-4 kbp 目标 DNA	5-6 kbp 目标 DNA
步骤 1	94℃ 2 min	94℃ 2 min	94℃ 2 min	94℃ 2 min
步骤 2	94℃ 20 s	94℃ 20 s	94℃ 20 s	94℃ 30 s
步骤 3	Ta 20 s	Ta 20 s	Ta 20 s	Ta 30 s
步骤 4	72℃ 20 s	72℃ 30 s	72℃ 40 s	72℃ 60 s
步骤 5	72℃ 5 min	72℃ 5 min	72℃ 5 min	72℃ 5 min
重复步骤 2-4 进行 30-35 个循环				
Ta = Tm - 5℃				

4. 基因组 DNA 和 cDNA 模板：基因组 DNA 模板量为 50-100 ng, 1-2 μL cDNA(起始转录用的 RNA 为 500 ng)，循环参数如下表:

步骤	＜2 kbp 目标 DNA
步骤 1	94℃ 2 min
步骤 2	94℃ 20-30 s
步骤 3	Ta 15-20 s
步骤 4	72℃ 20-60 s
步骤 5	72℃ 5 min
重复步骤 2-4 进行 30-35 个循环	
Ta = Tm - 5℃	

关联产品	Bst 2.0 DNA 聚合酶 8 U/μL