

KOD 使用说明书

【产品介绍】

KOD DNA polymerase 是从大肠杆菌中重组表达，经特殊工艺纯化所得。具有3'→5'外切酶活性，保真性能比普通Taq聚合酶高80倍。具有较高的延伸速率，在推荐的条件下大于每分钟2 kb。PCR产物为平端，可以直接接入本公司平端连接载体中。用于高保真、快速扩增目标DNA，环拉法引入点突变，补平DNA粘性末端等。

【活性定义】

嗜热菌DNA Polymerase的活性单位定义为：在推荐的缓冲反应体系中，以大马哈鱼精DNA为模板，68 ℃ 30分钟内合成10 nmol核酸所需要的酶量为1活性单位。

【质量控制】

经酶切实验检测无外源核酸酶污染，PCR方法未检测到宿主DNA残留，-20 ℃存放一年，无明显活性丧失。

【贮存溶液】

50 mM Tris-HCl (pH 7.6), 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% (v/v) glycerol。

【注意事项】

请使用高质量的薄壁PCR管，避免污染，以便提高结果的可重复性；
对于高保真酶，dNTP中杂质强烈抑制聚合酶反应，请使用高质量的dNTP；
引物的适当长度为22—35 bp；过长或者过短，需要优化退火温度；
GC含量高的情况下，请使用GC buffer，对保真性没有影响；
扩增基因组或GC含量较高时,建议98℃变性。

【包装】

7Sea-高保真 KOD 试剂盒	K003-50	K003-200	K003-1000
KOD polymerase	50ul	200ul	1ml
5×KOD buffer	200ul	800ul	4ml
25mM MgSO4	50ul	200ul	1ml
dNTP (10mM)	25ul	100ul	500ul

◆ 可参考 PCR 体系：

◆ KOD	◆ 0.5-1ul
◆ 5×KOD buffer	◆ 4ul
◆ 25mM MgSO4	◆ 0-1ul
◆ dNTP (10 mM each)	◆ 0.5ul
◆ Primers (20mM)	◆ 2ul (各 1ul)
◆ 无菌 H2O	◆ Up to 20ul

◆ 可参考 PCR 程序（需根据实际反应条件摸索优化）

95℃ 或 98℃ 4min	1 Cycle
95℃ 或 98℃ 20s	普通质粒扩增 (25 Cycles) 质粒点突变 (18 Cycles) cDNA 模板扩增(28-35 Cycles) 末端补平 (5 Cycles)
52℃(Tm-5℃) 20s	
68℃ 1.5 kb/min	
68℃ 3min	1 Cycle

Tips: 高 GC 含量的片段，建议利用 7Sea GC buffer（货号 K005）。