

**描述:** Therminator DNA Polymerase 来源于 Thermococcus species 9 N-7 中的一种，其是 9 N DNA 聚合酶突变体，无 3'-5' exo 活性，该突变体具有较强的掺入修饰底物的能力，如：ddNTP、rNTP 和 acyNTP，因此其适用于核糖核酸置换法 DNA 测序、ddNTP 或 acyNTP 的链终止法测序或 SNP 分析。

#### 组分

| 名称                                  | 200U     |
|-------------------------------------|----------|
| Therminator DNA Polymerase (2 U/μl) | 100 μl   |
| 5×PCR Buffer D                      | 1.5 mlx2 |

**储存:** -20℃ 可保存 2 年。

**活性定义:** 一个活力单位即在 72° C 条件下，30 分钟内催化 10 nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量。

**酶储存液:** 10mM Tris-HCl, pH7.6, 100mM NaCl, 0.05% Tween20, 1mM DTT, 0.5mM EDTA, 50%甘油。

**1×PCR Buffer D:** 包含反应缓冲盐及 1.8mM Mg<sup>2+</sup>。

#### 反应实例

##### 1. 按以下组分配制 PCR 反应液

|                                     |             |
|-------------------------------------|-------------|
| Therminator DNA Polymerase (2 U/μl) | 0.5 μl      |
| 5×PCR Buffer D                      | 10 μl       |
| dNTP Mixture (10 mM each)           | 1 μl        |
| 引物 F (10 μM)                        | 1 μl        |
| 引物 R (10 μM)                        | 1 μl        |
| 模板 DNA                              | X           |
| ddH <sub>2</sub> O                  | Up to 50 μl |

##### 2. PCR 扩增循环参数

| 循环数                   | 温度   | 时间      |
|-----------------------|------|---------|
| 1 <sup>st</sup> Cycle | 95°C | 2min    |
|                       | 95°C | 10s     |
| 25-35 Cycles          | 55°C | 10s     |
|                       | 72°C | 1kb/min |
| Last Cycle            | 72°C | 2min    |