

Exp Taq DNA 聚合酶 Ver.2 (Mg²⁺-、dNTPs+)

Exp Taq DNA Polymerase Ver.2 (Mg²⁺ free and dNTPs plus)

Code No. AG11412

包装量: 125 U
50 rxns / 50 μl
保存温度: -20 °C

产品概述

本制品是应用LA PCR原理，精心优化得到的PCR反应体系，在本公司性能优越的*Accurate Taq enzyme*中添加了高保真酶，使其具有部分3' -5' Exonuclease 活性 (Proof reading 活性)，非常适合长片段DNA的PCR扩增，且具有较好的保真性。使用本品得到的大部分PCR产物3' 端带有一个A碱基，可直接克隆于T载体。

活性定义

在74°C、30分钟内，以活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，将10 nmol 脱氧核苷酸摄入到酸不溶物质所需的酶量。

保存

保存温度：-20°C

运输温度：干冰或者 -20°C 冰袋运输

产品组成

| | |
|---|--------|
| Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl) | 25 μl |
| 5X Exp Taq PCR Buffer Ver.2 (Mg ²⁺ free) | 500 μl |
| MgCl ₂ Solution (50 mM) | 125 μl |
| dNTP Mix (10 mM each) | 100 μl |

实验操作

反应体系¹⁵ (50 μl)

| 组分名称 | 反应终浓度 | 加入量 |
|---|-----------------------|-------------|
| Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl) | 2.5 U ^{*1} | 0.5 μl |
| 5X Exp Taq PCR Buffer Ver.2 (Mg ²⁺ free) | 1 X | 10 μl |
| MgCl ₂ Solution (50 mM) | 2.5 mM ^{*2} | 2.5 μl |
| dNTP Mix (10 mM each) | 0.4 mM | 2 μl |
| Template | ≤500 ng ^{*3} | - |
| Primer F (10 μM) | 0.2 μM ^{*4} | 1 μl |
| Primer R (10 μM) | 0.2 μM ^{*4} | 1 μl |
| RNase free water | - | Up to 50 μl |

*1: 该溶液使用前先离心然后再使用，避免酶量损失。表中推荐的酶量经过优化，适用于大多数的PCR反应；也可根据实际情况进行调整。

*2: Mg²⁺用量推荐终浓度2.5 mM，可根据实际情况进行调整。

*3: 模板用量一般≤500 ng；可根据实际需要调整模板用量。

*4: 引物通常使用终浓度为0.2 μM；也可根据实际情况需要在0.2 - 1.0 μM范围内调整。

*5: 反应体系需要在冰上配制，最后将配制好的反应液放置于PCR仪中反应。


反应条件（以扩增1 kb DNA片段为例*10）

| Step | 温度 | 时间 | Cycles |
|------|------|--------------------------|---------|
| 预变性 | 94°C | 1 min ^{*6} | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec ^{*7} | } 25-35 |
| 退火 | 55°C | 30 sec ^{*8} | |
| 延伸 | 72°C | 1 min / kb ^{*9} | |
| 最终延伸 | 72°C | 2 min | 1 |

*6: 一般建议将预变性设置为 94°C 30 sec~1 min; 对于复杂模板, 如高 GC 或者长片段, 可尝试延长预变性时间。

*7: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般98°C 5~10 sec 或94°C 30 sec。

*8: 退火温度主要取决于上下游引物的T_m值, 通常可按照 T_m ± 5°C 设定; 使用本试剂盒自带模板和引物扩增时, 退火温度设定为57°C。

*9: 延伸温度一般设定为72°C, 延伸速度1 min / kb; 同时, 可在30 sec / kb ~1 min / kb 范围内进行调整。

*10: 当引物T_m值较高或三步法PCR扩增结果不好时, 可尝试两步法PCR扩增(两步法PCR反应程序可参考附录)。

结果检测

反应结束后, 取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

附录：两步法PCR反应程序

| 两步法 PCR 反应程序 | | | |
|--------------|------|------------|---------|
| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
| 预变性 | 94°C | 1 min | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | } 25-35 |
| 延伸 | 68°C | 1 min / kb | |
| 最终延伸 | 72°C | 10 min | 1 |

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.