

# Exp Taq DNA 聚合酶Ver.2 (Mg<sup>2+</sup>、dNTPs+)

Exp Taq DNA Polymerase Ver.2 (Mg<sup>2+</sup> and dNTPs plus)

Code No. AG11411

<b>包装量:</b>	125 U 50 rxns / 50 μl
<b>保存温度:</b>	-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 <sup>2+</sup> plus)	500 μl
dNTP Mix (10 mM each)	100 μl

## ➤ 实验操作

反应体系\*4 (50 μl)

组分名称	反应终浓度	加入量
Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl)	2.5 U <sup>†</sup>	0.5 μl
5X Exp Taq PCR Buffer Ver.2 (Mg <sup>2+</sup> plus)	1 x	10 μl
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μl
Template	≤500 ng <sup>‡</sup>	-
Primer F (10 μM)	0.2 μM <sup>‡</sup>	1 μl
Primer R (10 μM)	0.2 μM <sup>‡</sup>	1 μl
RNase free water	—	Up to 50 μl

\*1: 产品中*Exp Taq DNA Polymerase* 第一次使用时，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: 模板用量一般≤500 ng；可根据实际需要调整模板用量；若使用本试剂盒中Control Template时，模板用量推荐0.5 ng。

\*3: 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。使用本试剂盒中Control Primer F / R2 时，引物终浓度推荐0.2 μM。

\*4: 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<sup>9</sup>）**

Step	温度	时间	Cycles
预变性	94°C	1 min <sup>5</sup>	1
变性	98°C	10 sec <sup>6</sup>	} 25-35
退火	55°C	30 sec <sup>7</sup>	
延伸	72°C	1 min / kb <sup>8</sup>	
最终延伸	72°C	2 min	1

\*5: 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。

\*6: 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。

\*7: 退火温度主要取决于上下游引物的T<sub>m</sub>值, 通常可按照 T<sub>m</sub> ± 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。

\*8: 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。

\*9: 当引物T<sub>m</sub>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。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://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.

**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