

L-Exp Taq DNA 聚合酶 (Mg²⁺、dNTPs+)

 L-Exp Taq DNA Polymerase (Mg²⁺ and dNTPs plus)

Code No. AG11415

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

产品概述

L-Exp Taq DNA Polymerase是在本公司性能优越的Accurate Taq enzyme中添加高保真酶,使其具有部分3' - 5' Exonuclease 活性(Proof reading活性),非常适合长片段和较复杂DNA的PCR扩增。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。本制品经过特别优化,不仅具有非常强的长片段扩增性能,还兼备扩增复杂模板的能力,以Human基因组DNA为模板可扩增~24 kb的DNA片段,而且,对于难以扩增的较高GC含量模板(~75%),扩增成功率高。

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

L-Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl)	25 μl
5X L-Exp Taq PCR Buffer (Mg ²⁺ 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
L-Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl)	2.5 U*1	0.5 μl
5X L-Exp Taq PCR Buffer (Mg ²⁺ plus)	1 X	10 μl
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μl
Template	≤500 ng*2	-
Primer F (10 μM)	0.2 μM*3	1 μl
Primer R (10 μM)	0.2 μM*3	1 μl
RNase free water	-	Up to 50 μl

*1: L-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;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。

*3: 引物通常使用终浓度为0.2 μM;可根据实际需要在0.2~1.0 μM范围内调整。

*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*）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ⁵	1
变性	98°C	10 sec ⁶	} 25-35
退火	55°C	30 sec ⁷	
延伸	72°C	1 min / kb ⁸	
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_m值, 通常可按照 T_m ± 5°C设定。

*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_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	

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.