

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

L-Exp Taq DNA Polymerase (Mg<sup>2+</sup> free and dNTPs plus)

Code No. AG11416

**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 <sup>2+</sup> free)	500 μl
dNTP Mix (10 mM each)	100 μl
MgCl <sub>2</sub> Solution	150 μl

## 实验操作

反应体系<sup>15</sup> (50 μl)

组分名称	反应终浓度	加入量
L-Exp Taq DNA Polymerase (5U/μl)	2.5 U <sup>1</sup>	0.5 μl
5X L-Exp Taq PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	1 X	10 μl
MgCl <sub>2</sub> Solution	3.0 mM <sup>2</sup>	3 μl
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μl
Template	≤500 ng <sup>3</sup>	-
Primer F (10 μM)	0.2 μM <sup>4</sup>	1 μl
Primer R (10 μM)	0.2 μM <sup>4</sup>	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:  $Mg^{2+}$  推荐反应终浓度为 3.0 mM, 可根据实际情况进行调整。
- \*3: 模板用量一般  $\leq 500$  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  $0.2 \mu M$ ; 可根据实际需要在  $0.2 \sim 1.0 \mu M$  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<sup>\*10</sup>)

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min <sup>*6</sup>	1
变性	98°C	10 sec <sup>*7</sup>	25-35
退火	55°C	30 sec <sup>*8</sup>	
延伸	72°C	1 min / kb <sup>*9</sup>	
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  $T_m \pm 5^\circ C$  设定。

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.

\*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	