

2X *L-Exp Taq* 预混液

2X *L-Exp Taq* Master Mix

Code No. AG11417

包装量: 500 μ l X 6 pc
(120 rxns / 50 μ l)

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

➤ 产品概述

本品为即用型 *L-Exp Taq* Enzyme PCR 反应2倍浓度的预混液, 包含 *L-Exp Taq* DNA Polymerase、dNTPs 以及优化的 Buffer 体系, 进行 PCR 反应时, 只需向预混液中加入模板、引物和水即可进行扩增。这种预混液方案操作简便, 可最大限度的减少人为误差, 减少多步操作可能带来的污染, 在较短时间内即可获得检测结果。

精心优化的 PCR 反应体系, 使得本制品具有非常强的长片段扩增性能及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。使用本品获得的 PCR 产物的 3' 端带有一个 A 碱基, 可直接克隆于 T 载体。

➤ 活性定义

在 74 $^{\circ}$ C、30 分钟内, 以活性的大马哈鱼精子 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 $^{\circ}$ C

运输温度: 干冰或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

➤ 产品组成

2X <i>L-Exp Taq</i> Master Mix	500 μ l X 6 pc
RNase free water	1 ml X 3 pc

➤ 实验操作

反应体系^{*3} (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X <i>L-Exp Taq</i> Master Mix	1X	25 μ l
Template	≤ 500 ng ^{*1}	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M ^{*2}	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M ^{*2}	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l

*1: 模板用量一般 ≤ 500 ng; 可根据实际需要调整模板用量。

*2: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M; 可根据实际需要在 0.2 - 1.0 μ M 范围内调整。

*3: 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⁶）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ⁴	1
变性	98°C	10 sec ⁵	} 25-35
退火	55°C	30 sec ⁶	
延伸	72°C	1 min / kb ⁷	
最终延伸	72°C	2 min	1

*4: 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。

*5: 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。

*6: 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。

*7: 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。

*8: 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。

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.

➤ 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	