

Exp Taq HS DNA 聚合酶 Ver.2 (Mg²⁺-、dNTPs+)

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

Code No. AG11503

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

➤ 产品概述

本制品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), 精心优化得到的 PCR 反应体系, 非常适合长片段和较复杂 DNA 的 PCR 扩增。

同时在 *Exp Taq* HS DNA Polymerase 中还混合了 Taq 单克隆抗体, 可以进行 Hot Start PCR。反应开始前抗体会与 Taq 酶结合并抑制其活性, 从而可以抑制低温条件下引物非特异性退火引起的非特异性扩增。当 PCR 反应开始后, 抗体会在最初的 DNA 变性步骤中失活, 因此在常规 PCR 反应条件下即可使用。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

<i>Exp Taq</i> HS DNA Polymerase (5U/μl)	25 μl
5X <i>Exp Taq</i> 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^{*5} (50 μl)

组分名称	反应终浓度	加入量
<i>Exp Taq</i> HS DNA Polymerase (5U/μl)	2.5 U ⁻¹	0.5 μl
5X <i>Exp Taq</i> 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: Mg^{2+} 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 $0.2 \mu M$ ；也可根据实际情况需要在 $0.2 - 1.0 \mu M$ 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*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Tm值，通常可按照 $Tm \pm 5^\circ C$ 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: 延伸速度一般设定为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Tm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.