

Version 2

Exp Taq 高GC聚合酶(dNTPs+)

Exp Tag GC-rich Polymerase (dNTPs plus)

125 U / 50 rxns

Code No. AG11507

包装量: 保存温度:

-20 °C

▶ 产品概述

本制品是专门针对高 GC 含量模板设计的 PCR 扩增产品。 DNA Polymerase、反应 buffer 都经过优化,非常适合于复杂、富含 GC 的 cDNA 和基因组 DNA 模板扩增,具有错配率低以及高扩增性的特点。使用本制品扩增得到的大部分PCR 产物 3'端带有一个 A 碱基,可直接克降于 T 载体。

为了获得更好的扩增效果,本制品配有两种反应 Buffer: 2X GC Reaction Buffer 与 GC Enhancer Buffer; 一般情况下建议 首先使用 2X GC Reaction Buffer 进行扩增反应,如果不能得到理想的结果,可再向 PCR 反应体系中添加适量的 GC Enhancer Buffer 进行尝试。

▶ 保存

保存温度: -20℃

运输温度:干冰或者 -20℃ 冰袋运输

▶ 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 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

▶ 产品组成

Exp Taq DNA Polymerase (5 U/ µ I)	25 μΙ
2X GC Reaction Buffer	1.25 ml
GC Enhancer Buffer (5 M)	750 µI
dNTP Mix (10 mM each)	100 µI

> 实验操作

反应体系 (50 μI)*4

组分名称	反应终浓度	加入量
Exp Taq DNA Polymerase (5 U/ μ I)*1	2.5 U	0.5 μΙ
2X GC Reaction Buffer*2	1 x 25 µ	
GC Enhancer Buffer (5 M) *2	-	-
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μΙ
Template	≤ 1 μg	-
Primer F (10 µ M)	0.2 μ M*3	1 μΙ
Primer R ($10 \mu M$)	0.2 μ M* ³	1 μΙ
RNase free water	_	Up to 50 μ l



- *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。
- *2: 首先使用 2X GC Reaction Buffer 进行 PCR 扩增,如果不能得到理想的扩增结果,可向 PCR 反应体系中添加适量的 GC Enhancer Buffer 进行尝试; GC Enhancer Buffer 在 PCR 反应体系中终浓度范围为 0~1.5 M,浓度大于 1.5 M 时扩增性能可能会下降。
- *3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M, 可根据实验结果在 0.2 ~ 1.0 μ M 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 Jun proto-oncogene 2078 bp DNA 片段 (GC含量 64%) 为例

步骤	温度	时间		循环数	
预变性	94°C	30 sec		1	
变性*1	98℃	10 sec	ו		
退火	55°C*2	30 sec	-	25 ~ 35	
延伸	72℃	1 min	J		
最终延伸	72℃	2 min		1	

- *1: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般 94℃ 20 ~ 30 sec, 98℃ 5 ~ 10 sec。
- *2: 退火温度主要取决于上下游引物的 Tm 值,通常可按照 Tm ± 5℃ 设定。

> 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