

Exp Taq 高 GC 聚合酶 (dNTPs+)

Exp Taq GC-rich Polymerase (dNTPs plus)

Code No. AG11508

包装量: 500 U / 200 rxns
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，可直接克隆于 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°C

运输温度：干冰运输或者 -20°C 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/μl)	100 μl
2X GC Reaction Buffer	1 ml x 5 pcs
GC Enhancer Buffer (5 M)	1 ml x 3 pcs
dNTP Mix (10 mM each)	400 μl

实验操作

反应体系 (50 μl)¹⁴

组分名称	反应终浓度	加入量
Exp Taq DNA Polymerase (5 U/μl) ¹¹	2.5 U	0.5 μl
2X GC Reaction Buffer ²	1 x	25 μl
GC Enhancer Buffer (5 M) ¹²	-	-
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μl
Template	≤ 1 μg	-
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: 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 μM, 可根据实验结果在 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 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°C	10 sec	} 25 ~ 35
退火	55°C ^{*2}	30 sec	
延伸	72°C	1 min	
最终延伸	72°C	2 min	1

*1: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般 94°C 20 ~ 30 sec, 98°C 5 ~ 10 sec。

*2: 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。

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.

➤ 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。