

L-Exp Taq HS DNA 聚合酶(Mg²⁺-、dNTPs+)

L-Exp Taq HS DNA Polymerase (Mg²⁺ free and dNTPs plus)

Code No. AG11513

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

产品概述

本产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, 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。同时在 *L-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 脱氧核苷酸掺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>L-Exp Taq</i> HS DNA Polymerase (5U/μl)	25 μl
5X <i>L-Exp Taq</i> PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	500 μl
dNTP Mix (10 mM each)	100 μl
MgCl ₂ Solution	150 μl

实验操作

反应体系¹⁵ (50 μl)

组分名称	反应终浓度	加入量
<i>L-Exp Taq</i> HS DNA Polymerase (5U/μl)	2.5 U ¹	0.5 μl
5X <i>L-Exp Taq</i> PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	1 X	10 μl
MgCl ₂ Solution	3.0 mM ²	3 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: *L-Exp Tag* HS 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 ≤ 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^{*10})

步骤	温度	时间	循环数
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 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

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	1