

ApexDirect DNA 聚合酶

ApexDirect DNA Polymerase

Code No. AG12205

包装量: 100 rxns / 50 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

ApexDirect DNA Polymerase 是一种反应性能高的 DNA 聚合酶, 具有极强的扩增性能及广泛的模板适用性, 可用于常规 PCR 扩增。同时该制品对抑制剂有很好的抵抗力, 特别适合对血液、动植物组织等样品直接进行 PCR 反应。对于高 GC 含量、高 AT 含量及低起始量的模板都能进行有效的扩增。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

运输温度: 干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

活性定义

在 74 $^{\circ}$ 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活性定义为 1 个活性单位 (U)。

产品组成

ApexDirect DNA Polymerase (1 U / μ l)	100 μ l
2X ApexDirect Buffer (Mg ²⁺ and dNTP plus)*	1.25 ml $\times$ 2 pc

*: ApexDirect Buffer (Mg²⁺ and dNTP plus) 中的 Mg²⁺ 浓度为 4 mM, dNTP 浓度各 800 μ M。

实验操作

反应体系^{*1} (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
ApexDirect DNA Polymerase (1 U / μ l) ^{*2}	1 U	1 μ l
2X ApexDirect Buffer (Mg ²⁺ and dNTP plus)	1X	25 μ l
Template	$\leq$ 500 ng ^{*3}	-
Primer F (10 μ M)	0.3 μ M ^{*4}	1.5 μ l
Primer R (10 μ M)	0.3 μ M ^{*4}	1.5 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l

*1: 反应体系需在冰上配制。

*2: ApexDirect DNA Polymerase 使用前先离心, 将所有的酶液收集至离心管底部, 然后再进行使用, 减少损失; 酶保存液中甘油浓度较高, 使用时应轻柔混匀 (避免起泡), 缓慢吸取。

*3: 通常情况下模板量不高于 500 ng, 可获得很好的扩增效果。如进行直接 PCR, 血液、动植物组织等样本添加量可参考附录 1。

*4: 引物通常使用终浓度为 0.3 μ M, 可根据实验结果在 0.1 ~ 0.4 μ M 范围内调整。

反应条件（以三步法 PCR 扩增为例^{*4}）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	2 min ^{*1}	1
变性	98°C	10 sec ^{*2}	} 30 ~ 40
退火	60°C	15 sec	
延伸	68°C ^{*3}	1 min / kb	

*1: 对于普通模板，可省略预变性步骤；对于复杂模板（如高GC）或血液、动植物组织等样本直接进行 PCR，建议可将预变性设置为 98°C 1 ~ 2 min。

*2: 变性条件的设定可根据设备进行调整，一般 94°C 10 ~ 15 sec，98°C 5 ~ 10 sec。

*3: 两步法 PCR 与三步法 PCR，延伸温度都可设定为 68°C。

*4: 当引物 Tm 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好，可尝试两步法 PCR 扩增（两步法 PCR 反应程序可参考附录 2）。

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1

粗提样本的模板添加量

样本类型	建议样本添加量
EDTA / 肝素钠 / 柠檬酸钠抗凝血液	≤ 5 μl
鼠耳	≤ 1.5 mm ²
鼠尾	≤ 1 mm
植物叶（如豆芽叶尖、菠菜叶等）	≤ 直径 2 mm
土豆	≤ 1 mm ³
西红柿籽	≤ 1 mm ³

附录2

两步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	2 min	1
变性	98°C	10 sec	} 30 ~ 40
延伸	68°C	1 min / kb	