

Exp Taq DNA聚合酶(含GC Buffer)

Exp Taq DNA Polymerase with GC Buffer

Code No. AG11511

包装量:	125 U 50 rxns / 50 μ l
保存温度:	-20 $^{\circ}$ 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，对DNA Polymerase、反应 buffer 进行优化，非常适合于富含GC序列或含有重复序列的基因组DNA和cDNA模板的扩增；且本制品具有错配率低以及扩增性能强的特点。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 buffer I 与 2X GC buffer II；一般情况下建议先使用2X GC buffer I 进行PCR扩增，如果不能得到理想的结果，可再使用2X GC buffer II 进行尝试。

保存

保存温度：-20 $^{\circ}$ C

运输温度：干冰或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋

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 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

产品组成

Exp Taq DNA Polymerase (5 U/ μ l)	25 μ l
2X GC buffer I	625 μ l x 2 pc
2X GC buffer II	625 μ l x 2 pc
dNTP Mix (10 mM each)	100 μ l

注意事项

1. 产品中Exp Taq DNA Polymerase甘油浓度较高，使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液枪轻轻吸打混匀，过程中尽量避免起泡，然后再进行使用。
2. 反应体系需要在冰上配制，配制完后放进PCR仪中进行反应。

实验操作

反应体系 (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
Exp Taq DNA Polymerase (5U/ μ l)	2.5 U	0.5 μ l
2X GC buffer I or II ¹	1 x	25 μ l
dNTP Mix (10 mM each)	0.4 mM	2 μ l
Template	< 1 μ g	-
Primer F (10 μ M) ²	0.2 μ M	1 μ l
Primer R (10 μ M) ²	0.2 μ M	1 μ l
RNase free water	—	Up to 50 μ l

*1: 本制品配有 2 种 Buffer, 请先使用 2X GC buffer I, 如得不到很好地扩增, 可使用 2X GC buffer II 进行尝试。

*2: 通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好的结果, 也可根据具体实验情况在 0.2 ~ 1.0 μ M 范围内调整引物浓度。

反应条件 (以扩增 1 kb DNA 片段为例)
 (三步法 PCR 反应程序^{*1})

Step	温度	时间	Cycles
预变性 ^{*2}	94°C	1 min	1
变性 ^{*3}	94°C	30 sec	} 30-35
退火 ^{*4}	55°C	30 sec	
延伸	72°C	1 min / kb	
最终延伸	72°C	2 min	1

*1: 当引物 Tm 值较高或者 3 Step PCR 扩增结果不好, 也可尝试 2 Step PCR 扩增 (两步法程序可参考附录)。

*2: 预变性条件 94°C 1min 可获得比较好的结果, 对于特别复杂的模板, 如扩增结果不理想, 可调整预变性时间 1-5 min。

*3: 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。

*4: 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°C 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。

▶ 附录

(两步法 PCR 反应程序)

Step	温度	时间	Cycles
预变性	94°C	1 min	1
变性	94°C	30 sec	} 30-35
延伸	68°C	1 min / kb	
最终延伸	72°C	2 min	1

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.