

EX Taq DNA Polymerase

产品简介:

EX Taq DNA Polymerase 是通过大肠杆菌表达纯化的重组酶, 其基因来源于 *Thermus aquaticus* polymerase, 该蛋白分子量为 94 kDa, 具有 5'→3'DNA 聚合酶活性和 5'→3'外切核酸酶活性, 无 3'→5'外切核酸酶活性, 扩增得到的 PCR 产物 3'端附有一个 "A" 碱基, 因此可直接用于 T/A 克隆。本产品具有延伸速度快、扩增效率高的特点, 保真性高于普通 Taq DNA 聚合酶, 主要适用于 PCR 法扩增 DNA 片段、DNA 序列测定等实验。

产品组成:

名称	编号	NP0111	NP0111	Storage
	EX Taq DNA Polymerase(5U/μl)		500U	1000U
10× EX Taq PCR Buffer		1 ml	2×1ml	-20°C
使用说明书		1 份		

操作步骤(仅供参考):

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件, 实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

(1)PCR 反应体系(50μl)

试剂	加入量	终浓度
10×EX Taq PCR Buffer	5μl	1×
dNTP Mix, 2.5 mM each	4μl	200μM each
Forward Primer, 10μM	2μl	0.4μM
Reverse Primer, 10μM	2μl	0.4μM
Template DNA	<1μg	<1μg/reaction
EX Taq DNA Polymerase(5U/μl)	0.5-1μl	
RNase-Free Water	up to 50μl	

注意:

a、引物浓度请以终浓度 0.1-1.0μM 作为设定范围的参考, 扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度。

b、本产品的 10×EX Taq PCR Buffer 中含镁离子(MgCl₂ 20mM), 无需单独配制。

(2)PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	94°C	2min	
变性	94°C	30s	} 25-35 个循环
退火	54-65°C	30s	
延伸	72°C	30s	
终延伸	72°C	2min	

单位定义:用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物,在 74°C 30 分钟内,将 10nmol 脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U), 浓度: 5U/ μ l。

质控: 经过多次柱纯化, SDS-PAGE 检测其纯度大于 99%; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温存放一个月, 无明显活性改变。

注意事项:

- 1、一般退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C, 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 由此优化反应条件。
- 2、延伸时间应根据所扩增片段大小设定, 本产品 EX Taq DNA Polymerase 的扩增效率为 1kb/30s。
- 3 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少, 扩增量不足; 如果循环次数太多, 错配机率会增加, 非特异性背景严重; 在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。
- 4、避免反复冻融, 否则效率会降低; 10 \times EX Taq PCR Buffer 可以分装成小份使用。
- 5、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12 个月有效; 低温运输, -20°C 保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)