

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 94kDa，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	ADS013P0	ADS013P1	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/μl。

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×EX Taq PCR Buffer 可以分装成小份使用。
- 5、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。低温运输，-20°C 保存。