

## EXTaqDNA Polymerase 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

EXTaqDNA 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：

产品名称	规格	说明书	有效期	保存条件
EXTaqDNA Polymerase	500U/1000U	1 份	36 个月	-20℃
10× EX Taq PCR Buffer	1ml/2×1ml	1 份	12 个月	-20℃

**单位定义：**用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 74℃，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。

### 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 (50 μl)

试剂	加入量	终浓度
10×EX Taq PCR Buffer	5 μl	1×
dNTP Mix, 2.5 mM each	4 μl	200 μM each
Forward Primer, 10 μM	2 μl	0.4 μM
Reverse Primer, 10 μM	2 μl	0.4 μM
Template DNA	<1 μg	<1 μg/reaction

EX Taq DNA Polymerase (5U/ $\mu$ l)	0.5-1 $\mu$ l	
RNase-Free Water	up to 50 $\mu$ l	

**注意:**

a、引物浓度请以终浓度 0.1-1.0  $\mu$ M 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 $\times$ EX Taq PCR Buffer 中含镁离子(MgCl<sub>2</sub> 20mM)，无需单独配制。

(2)PCR 反应条件

步骤	温度	时间	25-35 个循环
预变性	94 $^{\circ}$ C	2min	
变性	94 $^{\circ}$ C	30s	
退火	54-65 $^{\circ}$ C	30s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30s	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2min	

**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 $^{\circ}$ 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、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**相关产品:**

PCR 扩增缓冲液(10 $\times$ , pH8.3)
--------------------------------

Taq+DNA+Polymerase
Taq 稀释缓冲液
二苯胺试剂(1%)
二苯胺试剂(1.5%)
二磷酸腺苷溶液 (ADP, 1mmol_L)