

TaKaRa Ex Premier™ DNA Polymerase Dye plus

Code No. RR371A

包装量: 1 ml x 5
(for 200 PCR reactions)

制品说明

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase 是基于 *Thermococcus* 属古细菌来源的 DNA polymerase 新研发的 α 型 PCR 酶。本制品通过优化酶和 buffer, 提高了对一般 PCR 试剂难以扩增的 GC/AT rich、长片段、粗提样品扩增的成功率。并且, 保持了 α 型 DNA 聚合酶具有的高保真性, PCR 扩增产物适用于克隆。

本制品是包含了所有组分 (酶、Buffer、dNTP Mixture 等) 的 2X 预混型试剂, 在 -20°C 下保存不会冻结, 因此, 不需要解冻, 可以立即添加引物和模板进行 PCR 反应。

此外, 本制品中已含有电泳时所必需的色素试剂 (绿色: 蓝色和黄色的混合色素), PCR 反应后可以直接进行电泳。

本制品中添加了常温下能抑制 DNA 聚合酶活性和 3' -5' 核酸外切酶活性的单克隆抗体, 适用于 Hot Start PCR。

保存: -20°C

注意: 使用前请避免剧烈搅拌, 轻轻颠倒混匀并离心集液至管底。

PCR反应液组成 (共 50 μl)

TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase	25 μl (终浓度 1X)
Dye plus (2X)	25 μl (终浓度 1X)
Primer 1	10-15 pmol (终浓度 0.2-0.3 μM)
Primer 2	10-15 pmol (终浓度 0.2-0.3 μM)
Template	请参考“模板添加量”
灭菌水	up to 50 μl

PCR 反应条件:

94 $^{\circ}\text{C}$	1 min ^{*1}	} 30 Cycles
↓		
98 $^{\circ}\text{C}$	10 sec	
55-60 $^{\circ}\text{C}$	15 sec	
68 $^{\circ}\text{C}$	30 sec/kb ^{*2}	

【GC rich 目的基因或 10 kb 以上长片段时】

94 $^{\circ}\text{C}$	1 min ^{*1}	} 30 Cycles
↓		
98 $^{\circ}\text{C}$	10 sec	
68 $^{\circ}\text{C}$	30 sec/kb ^{*2}	

*1 当目的片段富含 GC 序列或扩增长片段时, 请进行 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min 的预变性。

*2 以粗提样品作为模板扩增时, 请设置延伸时间为 1 min/kb。

注 1: 避免使用含次黄嘌呤核苷碱基 (Inosine) 的引物。

注 2: 退火温度根据引物的 T_m 值来设定。

模板添加量

推荐的模板 DNA 添加量 (50 μl 反应体系)

		(扩增长片段时)
Human genomic DNA	5~500 ng	(100~500 ng)
<i>E. coli</i> genomic DNA	100 pg~200 ng	(10~200 ng)
Plasmid DNA	10 pg~10 ng	(1~10 ng)
cDNA	25~750 ng	(250~750 ng)

注意: 经亚硫酸氢钠处理后的含尿嘧啶 DNA 为模板时, 不能使用本制品。

扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

使用 TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus 扩增的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳时, 建议使用 TAE buffer。

当 PCR 产物在琼脂糖凝胶上运行时, 鲜绿色染料分离成蓝色和黄色染料。

注意: 使用 TBE buffer 会导致电泳带在凝胶底部扩散, 不能获得清晰的、良好的电泳结果。

扩增产物的克隆

使用 TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus 扩增的 PCR 产物大部分都为平滑末端。

请使用 Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End) (Code No. 6027) 将 PCR 产物克隆于平滑末端载体中。

In-Fusion[®] 克隆推荐使用 In-Fusion Snap Assembly Master Mix 系列产品 (Code No. 638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956)。

如果想克隆到 T 载体上, 则需要对 3' 末端进行 dA 加尾反应, 推荐使用 Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR (Code No. 6019)。

限制酶处理时

对扩增产物进行限制酶处理时, 先进行苯酚/氯仿处理或使用 NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up (Code No. 740609.10 / .50 / .250) 等除去蛋白质。特别是使用 3' -末端突出的限制酶时 (例如 *Pst*I 等), 由于 TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase Dye plus 具有 3' \rightarrow 5' 外切酶活性, 如果该活性残留, 在限制酶处理中会将 3' -突出末端切掉。

cDNA 模板

因 cDNA 合成反应液成分的不同, 作为模板的 cDNA 加入到 PCR 反应液中, 可能会出现沉淀。

cDNA 合成推荐使用 PrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit (Code No. 6210A/B)、PrimeScript IV 1st strand cDNA Synthesis Mix (Code No. 6215A/B)

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.

Ex Premier and PrimeScript are trademarks of Takara Bio Inc.

注意

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。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术 (北京) 有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202206Da