

TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer

Code No. RR52AG
包装量: 125 Units

运输温度: -20°C
保存温度: -20°C

制品内容

TaKaRa LA Taq (5 U/μl)	25 μl
2×GC Buffer I (5 mM Mg ²⁺ Plus)	1.25 ml
2×GC Buffer II (5 mM Mg ²⁺ Plus)	1.25 ml

贮存溶液

Tris-HCl (pH8.0)	20 mM
KCl	100 mM
EDTA	0.1 mM
DTT	1 mM
Tween 20	0.5%
Nonidet P-40	0.5%
Glycerol	50%

活性定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 74°C, 30 分钟内, 摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

活性测定反应液组成

25 mM	TAPS (pH9.3, 25°C)
50 mM	KCl
2 mM	MgCl ₂
0.1 mM	DTT
200 μM	each dATP · dGTP · dCTP
100 μM	[³ H]-dTTP
0.25 mg/ml	activated salmon sperm DNA

纯度

10 U 的本酶和 0.6 μg 的 λ-Hind III、0.6 μg 的 Supercoiled pBR322 DNA 或 0.6 μg 的 λ DNA 在 74°C 下反应 1 小时, 均未检出内切酶和外切酶活性。

PCR 产物

使用本制品扩增得到的大部分 PCR 产物 3' 端附有一个 "A" 碱基, 因此可直接克隆于 T-Vector 中。但克隆片段过长 (大于 5 kb), TA 克隆效率将会降低。也可以将 PCR 产物进行末端平滑化和磷酸化后克隆到平滑末端载体中。

用途

PCR 法扩增 DNA。适用于高 GC 含量或含有重复序列片段的扩增。

PCR 反应性能

- 1) 以人基因组 DNA 为模板, 可很好地扩增 17.5 kb (β-Globin gene) 的 DNA 片段 (使用 GC Buffer I)。
- 2) 以人基因组 DNA 为模板, 可很好地扩增 *c-jun* proto oncogene 1,255 bp (GC 含量 65%) 的 DNA 片段 (使用 GC Buffer I, II)。

PCR 反应液配制 (共 50 μl)

TaKaRa LA Taq (5 U/μl)	0.5 μl
2×GC Buffer I or II*	25 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	8 μl
Template	<1 μg
引物 1	0.2-1.0 μM (final conc.)
引物 2	0.2-1.0 μM (final conc.)
灭菌水	up to 50 μl

*: 该产品附带两种反应 Buffer。请先使用 Buffer I, 当使用 Buffer I 不能扩增时, 再试用 Buffer II。

PCR 反应条件

以人基因组 DNA 为模板扩增 1,255 bp (GC 含量 65%) 的 DNA 片段。反应条件如下:

94°C	1 min.	} 30 Cycles
94°C	30 sec.	
60°C	30 sec.	
72°C	2 min.	
72°C	5 min	

Cool Start 法

这种冷启动法 (Cool Start Method) 可增强 PCR 扩增的特异性, 减少 PCR 过程中的非特异性反应, 能得到良好的 PCR 结果。该方法操作简单, 无需专门的酶或附加试剂。

Cool Start 法操作过程

- 1、使用前将试剂置于冰上。
- 2、在冰上准备反应混合液^{*1, 2}。
 - *1: 添加顺序不影响结果。
 - *2: 混合液在反应前冰上放置 30 min 不会影响结果。
- 3、设定程序。^{*3}
- 4、将 tube 放入后立即开始热循环反应。

*3: Cool Start 法不需要改变 PCR 条件。

TaKaRa LA Taq is a registered trademark 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. 书面许可授权或批准, 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.takara-bio.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。

v201702Da