

LAFast DNA Polymerase

目录号: AE131

储存条件: -20°C可保存 2 年。

产品组成

成分	AE131-01	AE131-02	AE131-03
LAFast DNA Polymerase (2.5U/μl)	250 U	500 U	3000U
10xLAFast Buffer	1.2 ml	1.2 mlx2	1.2 ml x12
6xDNA loading buffer	1ml	1ml	1ml x6

产品简介

本品是应用 LAPCR 原理研制的具有 3'→5'外切酶活性 (Proof reading) 的快速 DNA 聚合酶。无论是扩增短链 DNA 还是长链 DNA, 其效率都优于其它同类产品, 尤其在扩增大于 10 kb 的 DNA 片段方面, 速度更快, 而且保真性能强。

- 延伸速度为 2-4 kb/min。
- 使用本制品扩增得到的部分 PCR 产物 3'端带有一个“A”碱基, 因此可克隆于 T-Vector 中,但对长片段 TA 克隆效率将会降低,可以采用回收后加 A 再克隆的方法。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。

活性定义

1 单位(U) LAFast DNA polymerase 活性相当于在 72°C 30 min 内,以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板, 将 10nM 脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物所需的酶量。

质量控制

经检测无外源核酸酶活性; PCR方法检测无宿主残余DNA; 室温(15-25°C)存放两周, 无明显活性改变。

酶贮存缓冲液

20 mMTris-HCl pH8.0, 100 mMKCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, stabilizers, 50%Glycerol

PCR 反应性能

- 1) 以λ DNA 为模板, 可以很好地扩增 35 kb 的 DNA 片段。
- 2) 以人基因组 DNA 为模板, 可以很好地扩增 17.5 kb (β-Globin gene) 的 DNA 片段。

注意事项

- 普通扩增使用推荐的延伸时间可以获得较好的效果, 对复杂模板和长片段扩增可适当延长延伸时间。
- 在 50μl 体系中, 加入 1.25 units 酶可以满足大多数 PCR 反应; 对某些 PCR 反应, 可适当增加酶量, 以获得更好的扩增效果。



应用实例

以下举例仅供参考，实际反应需根据模板、引物、片段长度等变量，设定最佳反应条件。

1. 反应体系配制（以50 μ l反应体系为例）：

组成成分	用量
Template	100-200ng
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l
10xLAFast Buffer	5 μ l
dNTPs(2.5 mM each)	4 μ l
LAFast DNA Polymerase	0.5 μ l
ddH ₂ O	up to 50 μ l

2. PCR反应条件的设置（以扩增 15 kb λ DNA片段的为例）：

94°C	2 min	}	30cycles
94°C	10 sec		
68°C	30 sec/kb		
72°C	5 min		

3. 结果检测：反应结束后取5 μ l反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

