

Tli (exo-) DNA 聚合酶说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

Tli (exo-) DNA 聚合酶【又名 Vent (exo-) DNA 聚合酶】其来源于 *Thermococcus litoralis*, 经基因工程改造而得, 去除了 3' → 5' 核酸外切酶校读活性, 其保真度有所降低, 大约比 Taq DNA 聚合酶高 2 倍。该酶在 95°C 温育 1 小时后, 仍具有 90% 以上的聚合酶活性。Tli (exo-) DNA Polymerase 与 Vent (exo-) DNA Polymerase 性质和使用方法完全相同, 纯化自重组 *E. coli* 菌株, 其携带 D141A/E143A 突变。

组分

名称	500U
Tli (exo-) DNA Polymerase (5 U/μl)	100 μl
10×HG PCR Buffer 1	1 ml × 2

注意: 10×HG PCR Buffer 1 可能出现白色沉淀, 混合均匀后, 不影响使用。

PCR 反应性能: 以 λ DNA 为模板, 扩增 5kb DNA 片段; 以人类基因组 DNA 为模板, 扩增 2kb DNA 片段。扩增速度为 2kb/min。

反应实例

1. 按以下组分配制 PCR 反应液

Tli (exo-) DNA Polymerase (5 U/μl)	0.25 μl
10×HG PCR Buffer 1	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
*1 模板 DNA	X
上游引物 (10 μM)	2 μl
下游引物 (10 μM)	2 μl
ddH ₂ O	Up to 50 μl

*¹ 模板 DNA 用量参数(50 μ l 反应体系)

模板 DNA
(目的片段 \leq 5 kb) { 100-1000 ng Genomic DNA
5-30 ng Plasmid DNA
1-5 μ l cDNA from RT reaction

2. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	95 $^{\circ}$ C	2min
25-35 Cycles	95 $^{\circ}$ C	10s
	Tm	20s
	72 $^{\circ}$ C	2kb/min
Last Cycle	72 $^{\circ}$ C	2min

注:循环数过多会导致产物拖带。