



## 2×Long Taq PCR MasterMix (含染料)

Catalog # ZT 207

目录编号	产品名称	2×Long Taq PCR Master Mix(含染料)	ddH2O
□ZT207-1	2×Long Taq PCR MasterMix	0.5ml	1.2 ml
■ZT207-2	2×Long Taq PCR MasterMix	5ml	6 ml

Store at -20 °C

LOT#20A07A

### 适用范围:

适合于高保真的长片段及一些复杂模板（如含二级结构，富含GC序列和重复序列等）的扩增，如构建基因图谱、测序及分子遗传学研究等。

### 产品介绍:

一般PCR法具有一定的局限性，特别是难以扩增5 kbp以上的长链DNA，这严重限制了PCR法的推广和应用。通过改变PCR用DNA聚合酶、PCR用Buffer、PCR扩增条件等，使长链DNA的扩增成为可能，这就是LA（Long and Accurate）PCR技术。本试剂盒所用的LA Taq 是Taq聚合酶和有校正功能的聚合酶的混合酶，这种混合酶可以染色体和其它细胞器的DNA为模板高效进行PCR反应。在人的染色体上可以扩增长度可达27 kb的DNA片段，而以λDNA为模板则可以扩增出高达40 kb的片段。本制品是2×LATaq MasterMix，使用方便，减少了试验操作过程的污染。

### 产品内容(2×):

- Long Taq DNA Polymerase (recombinant) : 0.05units/μl
- MgCl<sub>2</sub> : 4mM
- dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) : 0.4mM

### 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 ；能有效地扩增人基因中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

### 使用说明:

本产品使用方便快捷，能避免 PCR 操作过程中的污染，使用时只需取适量2×Long Taq PCR MasterMix溶液，加入模板和引物，并加入去离子水补足体积，使MasterMix溶液浓度为1×即可进行反应。使用前请保证充分溶解并混匀，操作需在冰上进行。



## 反应举例:

**提示:** 以下举例仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异,需根据实际情况,设定最佳反应条件

1. 用2×Long Taq PCR MasterMix产品,以人基因组DNA为模板,扩增10kb的片段,反应体系为25μl(如反应体系不同,可按此比例增加或减少用量)。

2×MasterMix	12.5μl
Template	10pg-1μg
Primer 1	0.1-1μl
Primer 2	0.1-1μl
ddH2O	补足25μl

2. PCR反应循环的设置:

94°C	5 min	} 30 cycles
94°C	1 min	
温度视引物定 65°C	1 min	
45-60 sec/kb 68°C	1 min	
72°C	5 min	

扩大大片段尤其是20 kb以上的片段我们建议15-30循环时每个循环的延伸时间要增加10-15 sec“自动延长”时间,如果PCR仪器没有“自动延长”功能,那么设定延伸时间时候建议在原有基础上增加1-4 min。

## 注意:

1、1、扩增长片段强烈推荐使⤵用0.2 μl薄壁管。其他试管未经测试。较厚的试管在92°C时不能有效地使模板变性。变性时,尽可能缩短变性时间,降低变性温度。第一步变性在92~94°C下进行2 min(GC含量高可延长时间达5 min)。在循环过程中尽可能缩短变性时间(92~94°C下进行10-15 sec),除非模板中富含GC,则95°C下变性30 sec。这可以防止DNA脱嘌呤和链断裂,对于所需扩增的基因组DNA片段终长度超过12 kb时,应该尽可能的降低变性温度和时间。变性需要的时间在不同的PCR仪器上稍有不同。

2、如果扩增模板GC含量高或者扩增片段比较长,可在反应混合物中加入DMSO到终浓度1%-8%,最常用2%(<30kb)或者4%(>30 kb)往往会改善扩增效果。

3、增长片段引物一般终浓度为0.3-1 μM,长度最好为27-36 bp,退火温度一般在65°C-70°C,此时退火温度和延伸温度基本一致,可将退火延伸在同一个温度进行,使用2阶段扩增法。当然如果设计的引物在20 bp左右,则还是使用传统3阶段扩增法为好。

4、模板一般使用0.01-2.5 ng(λphage)或者0.1-1 μg(Human)