



2×Long Taq PCR MasterMix (不含染料)

Catalog # ZT 208

目录编号	产品名称	2×LongTaq PCR MasterMix(不含染料)	ddH2O
■ZT208-1	2×Long Taq PCR MasterMix	0.5ml	1.2 ml
□ZT208-2	2×Long Taq PCR MasterMix	5ml	6 ml

Store at -20 °C

LOT#1BC08B

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:

Long Taq DNA Polymerase是本公司研制的具有3' -5' 外切酶活性的耐热DNA聚合酶，具备扩增效率高，保真性能强的特点。配备高效扩增Buffer, 可适应不同模板的扩增，对简单模板可扩增长达40kb的片段，对复杂二级结构（GC rich等）和具有重复序列的模板可扩增长达15kb的片段。PCR产物可直接进行T/A载体克隆，如需提高克隆效率，建议先纯化，加A后再进行T/A载体克隆。

本产品包含Long Taq DNA聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液，浓度为2×。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度的减少人为误差。使用时只需加入DNA模板和引物既可。20μl反应体系可用50次。

产品内容(2×):

- Long Taq DNA Polymerase (recombinant) : 0.05units/μl
- MgCl₂ : 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	补至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	

扩增大片段尤其是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、扩增长片段强烈推荐0.2μl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2min(GC含量高可延长时间达5min)。在循环过程中尽可能缩短变性时间(92-94°C下进行10-15sec),除非模板中富含GC,则95°C下变性30sec。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12kb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%(>30kb)往往会改善扩增效果。

3、增长片段引物一般终浓度为0.3-1μM,长度最好为27-36bp,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20bp左右,则还是使用传统3阶段扩增法为好。

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