2×Long Taq PCR MasterMix

北京艾德莱生物科技有限公司
Aidlab Biotechnologies Co.,Ltd
地 址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130
电 话：010－82796972/82795296（Fax）
网 址：www.aidlab.cn 邮箱：info@aidlab.cn

使 用 说 明 书

包 装 量：

目录编号	包装单位
PC1501(含染料) **PC1511(不含染料)**	0.5ml
PC1503(含染料) **PC1513(不含染料)**	1ml
PC1502(含染料) **PC1512(不含染料)**	5ml

产品组成、储存、浓度：

目录编号 / 组成	**PC1501（含染料）** **PC1511（不含染料）**	**PC1503（含染料）** **PC1513（不含染料）**	**PC1502（含染料）** **PC1512（不含染料）**
2×Long Taq PCR Master Mix	0.5ml	1ml	5ml

储存：－20 ℃ 保存。浓度： 0.1U/μl

制品说明： 本产品包含 Long Taq DNA 聚合酶、dNTPs、$MgCl_2$、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。可用于长片段 DNA 扩增和 GC 含量高，二级结构丰富的片段扩增。

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。

产品内容： Long Taq DNA Polymerase (recombinant)：0.05units/μl ；$MgCl_2$： 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。

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 1kb 的片段，反应体系为 50μl（如反应体系不同，可按此比例增加或减少用量）。

模板DNA 2.5ng（λphage）或者0.5μg(Human) 噬菌体（0.1-5ng），人基因组(0.1-1μg)	？ μl
引物 1（20 μM）	0.5-1μl
引物 2（20 μM）	0.5-1μl
2× long Taq MasterMix	25μl
ddH_2O	补至 50μl

2．PCR 反应循环的设置：

94℃: 3 min
94℃: 30 sec ⎤
55℃: 30 sec ⎥ 30 cycles
72℃: 1 min ⎦
72℃: 5 min

3．结果检测：反应结束后取 5μl 反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

注意事项：

1. 扩增长片段强烈推荐使用 0.2μl 薄壁管。其他试管未经测试。较厚的试管在 92℃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℃下进行 2 分钟（GC 含量高可延长时间达 5 分钟）。长片段在循环过程中尽可能缩短变性时间（92~94℃下进行 10-15 秒），除非模板中富含 GC，则 95℃下变性 30 秒。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甜菜碱或者 DMSO, 甜菜碱终浓度 1-2.5M; 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. 扩增长片段，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℃-70℃，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。