

## Long Taq Mix

货号: P2061, P2062

### 产品简介

Long Taq Mix 是 2×浓缩的 PCR 扩增预混和溶液, 含有抗体修饰的热启动型 Long Taq DNA 聚合酶、dNTPs、缓冲液等 PCR 扩增必需组分(模板与引物除外)。使用时, 仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR, 大大简化操作过程, 缩短操作时间, 降低污染(加样次数减少)。同时, 由于体系内含有优化剂与增强剂, 能够显著增强 PCR 扩增的灵敏度。Long Taq DNA 聚合酶是专门用于扩增长片段的嗜热 DNA 聚合酶, 其保真性是普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍左右。扩增片段的长度可达 20 kb(简单模板)。在扩增复杂模板(如 GC-rich 或重复序列)时, Long Taq DNA 聚合酶的扩增效率显著高于 Taq DNA 聚合酶。因此 Long Taq DNA 聚合酶适合 >5kb 的 DNA 片段及复杂模板的扩增。延伸速度为 20s/kb(70~75℃, 简单模板可达 5s/kb)。扩增产物具有两种末端: 平末端与 3'-dA。

### 产品组成

Component	P2061	P2062
2× Long Taq Mix	1 ml	1 ml× 3
超纯水	1 ml	1 ml× 3
PCR Enhancer <sup>[1]</sup>	0.5 ml	0.5 ml× 3

本产品分含体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品, PCR 扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如无特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

[1] PCR Enhancer 主要通过降低 DNA 模板的解链温度, 促进 DNA 模板的有效扩增, 增加 PCR 反应的灵敏度和特异性。可单独订购(Cat. #: P9041)。

### 保存条件

-20℃保存 2 年。

### 质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

### 应用举例

#### 1. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 µl reaction volume)	Final concentration (50 µl reaction volume)
1	2× Long Taq Mix <sup>[1]</sup>	25 µl	1×
2	upstream primer (10 µM) <sup>[2]</sup>	2 µl	0.4 µM
3	downstream primer (10 µM) <sup>[2]</sup>	2 µl	0.4 µM
4	template DNA <sup>[3]</sup>	1-4 µl	<1µg
5	超纯水 <sup>[4]</sup>	To 50 µl	-
optional	PCR Enhancer <sup>[4]</sup>	4-16 µl	-
optional	MgCl <sub>2</sub> (MgSO <sub>4</sub> ) <sup>[4]</sup>	Variable	-

[1] 根据实验需要调整 Long Taq Mix 用量, 降低终浓度可提高反应特异性, 提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 µM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[3] 不同模板最佳用量不同, 部分 DNA 模板建议用量如下表(50 µl 反应体系)。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1µg-1µg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水(Cat. #: P9021/P9022/P9023), PCR Enhancer(Cat. #: P9041)和 25mM MgCl<sub>2</sub>(Cat. #: P9031)。

#### 2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	25-35
Annealing	55-68℃ <sup>[1]</sup>	30 sec	
Extension	72℃	Variable <sup>[2]</sup>	

Final Extension	72°C	5-10 min	1
-----------------	------	----------	---

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 20s/kb 来设最佳（简单模板可达 5s/kb）。

### 3. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl<sub>2</sub>（Cat. #: P9031）等可提高产量。

### 操作注意事项

1 本产品采用改进的抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。

2 Long Taq Mix 的扩增产物有两种末端：平末端和 3'-dA 突出末端。如要进行 TA 克隆，请先进行加 A 反应，以提高克隆效率。（加 A 反应：参考如下体系，72°C，15-30min）

PCR（纯化）产物	1-7 μl
10× Taq Buffer (Mg <sup>2+</sup> Plus)	1 μl
dATP	0.2 mM
Taq DNA 聚合酶	5U
超纯水	To 10 μl

3 Long Taq Mix 既可扩增长片段的 DNA，也可扩增小片段（几百 bp）的 DNA。

4 PCR Enhancer 主要在 Long Taq Mix 扩增无结果或扩增效果不好时使用。使用后退火温度需在原温度上降低 2-3°C，否则会降低 PCR 效率，建议使用 Tm 值较高的引物。PCR Enhancer 能够与所有的耐热 DNA 聚合酶共同作用。

### 引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3' 末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65°C 之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，

额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。