

AipMix 2× LongTaq PCR MasterMix(+Dye)

使用说明书

◆版本号：231201

◆包装量：

目录编号	包装单位
GP117-01	1mL
GP117-02	5*1mL
GP117-03	25*1mL

◆产品储存：冰块运输，-20℃保存，保质期2年，室温存放一周，无明显活性改变。

◆产品浓度：0.1U/μL

◆产品介绍：

本制品包含 LongTaq 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。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。

本制品使用方便快捷，能避免 PCR 操作过程中的污染，使用时只需取适量 2× LongTaq 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。

◆染料说明：本制品含甲酚红，颜色可能在橘黄色和紫红色之间变化。颜色改变不影响产品质量和使用效果。

◆产品内容：LongTaq DNA Polymerase (Recombinant): 0.1units/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。

◆适用范围：本制品适合扩增长度≤10kb。

◆反应举例：(以下举例仅供参考)

1. 用 AipMix 2× LongTaq PCR MasterMix 制品，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)。

Components	Volume(25 μ L)
AipMix 2 \times LongTaq PCR MasterMix	25 μ L
模板DNA 2.5ng(λ phage)或者0.5 μ g(Human)噬菌体(0.1-5ng), 人基因组(0.1-1 μ g)	\times μ L
引物1 (20 μ M)	0.5-1 μ L
引物2 (20 μ M)	0.5-1 μ L
ddH ₂ O	补至 50 μ L

注 为了获得更好的扩增特异性，建议在冰上配制反应液。使用时将所有的溶液收集至离心管底部，然后再进行使用，减少损失；使用时应轻柔混匀(避免起泡)，缓慢吸取。

2. PCR 反应循环的设置：(以三步法 PCR 扩增为例)

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94 $^{\circ}$ C	3 min	-
变性	94 $^{\circ}$ C	30 sec	30 Cycles
退火	55 $^{\circ}$ C	30 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 -60 sec/1kb	
最终延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	-

注：实际 PCR 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。

3. 结果检测：反应结束后，取 5 μ L 反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。如果是含染料 Mix 扩增的产物，可以不用加上样缓冲液，直接上样电泳即可。

◆**注意事项**：

1. 扩增长片段强烈推荐使使用 0.2 μ L 薄壁管。其他试管未经测试。较厚的试管在 92 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 下进行 10-15 秒)，除非模板中富含 GC，则 95 $^{\circ}$ C 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 0.3-1 μ M，长度最好为 27-36 bp；退火温度一般在

65-70°C，此时退火温度和延伸温度基本一致，可将退火和延伸在同一个温度进行，使用 2 步扩增法。当然如果设计的引物在 20 bp 左右，则还是建议使用传统 3 步扩增法为好。

=====

