

Version: AF 3.2 (2021.04.01修订)

Spark Long Taq DNA Polymerase

 $(5 U/\mu L)$

目录号: AF0401

01/产品组分

序号	组分	AF0401-A	AF0401-B
1	Spark Long Taq DNA Polymerase	500 U	3000 U
2	10×Long Taq Buffer (with Mg ²⁺)	1 mL	1 mL×6

02/保存条件

本产品所有组分-20℃保存。

03/产品概述

普通 PCR 方法具有一定的局限性,特别是难以扩增 5 kb 以上的长链 DNA,这严重限制了 PCR 方法的推广和应用。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。本产品 Spark Long Taq DNA Polymerase 是 Taq 聚合酶和有校正功能聚合酶的混合酶,这种混合酶可以以染色体和其它细胞器的 DNA 为模板进行高效 PCR 扩增。在人的染色体上可以扩增长度可达 27 kb 的 DNA 片段,而以λ DNA 为模板则可以扩增出高达 40 kb 的片段。

04/活性单位

1 单位(U)Spark Long Taq DNA Polymerase 活性定义为在 74℃、30 分钟内,以活性化的大马哈鱼精子 DNA 为模板引物,将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

05/质量控制

SDS-PAGE 检测纯度大于 99%, 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因;



室温存放一周, 无明显活性改变。

06/适用范围

一般用于 DNA 片段的 PCR 扩增、DNA 标记、引物延伸、序列测定、平末端加 A 等,产物可以直接用于 T/A 载体克隆。

07/实验流程

反应体系

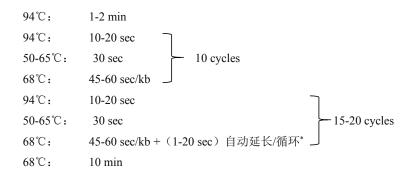
操作在冰上进行,各组分解冻后请充分混匀后使用,用完后请及时放回-20℃保存。反应体系不同,可按此比例增加或减少产品用量。

Components	Volume
Template	optional
Forward Primer (10 µM)	1-2 μL
Reverse Primer (10 μM)	1-2 μL
10×Long Taq Buffer (with Mg ²⁺)	5 μL
dNTP Mixture (2.5 mM each)	8 μL
Spark Long Taq DNA polymerase (5 $U/\mu L$)	0.5-1 μL
ddH_2O	up to $50 \mu L$

▲PCR反应体系中,不同模板的最佳反应浓度有所不同,50 μL体系推荐模板使用量如下:

模板种类	模板使用量
质粒或病毒DNA	1-30 ng
基因组DNA	$0.1{\sim}1~\mu g$
λDNA	2.5 ng
噬菌体	0.1~5 ng

反应程序





▲扩增大片段尤其是20 kb以上的片段时,建议15-30循环时每个循环的延伸时间增加10-15 Sec "自动延长"时间,如果PCR仪没有"自动延长"功能,那在设定延伸时间时,建议在原有基础上延长1-4 min。以下是不同长度的片段建议的延伸时间及自动延伸时间表:

PCR片段长度 (kb)	延伸时间 (min)	自动延长/循环 (Sec)
3	2	1
6	4	2
10	7	5
15	10	5
20	14	10
25	17	10
30	20	15
35	24	15
40	27	20
45	30	20

08/结果检测

反应结束后取 5 μL 反应产物,在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。

09/相关产品

AF0402 2×Spark Long Taq PCR Master Mix (with dye)

AF0801 2×Spark LongHiFi PCR Master Mix (with dye)

AF1402 SuperPure dNTP Mixture each 10mM solution

AJ0101 Spark 2000 DNA Marker

AJ0201 Spark 6×DNA Loading Buffer (双染料)

AJ0210 Sparkred

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: http://www.sparkjade.com

Support: support@sparkjade.com

