

Version: AF 3.2 (2021.04.01修订)

Spark Long Taq DNA Polymerase

(5 U/μL)

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/μL)	0.5-1 μL
ddH ₂ O	up to 50 μL

▲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	0.1~1 μg
λ DNA	2.5 ng
噬菌体	0.1~5 ng

反应程序

94°C:	1-2 min	
94°C:	10-20 sec	} 10 cycles
50-65°C:	30 sec	
68°C:	45-60 sec/kb	
94°C:	10-20 sec	} 15-20 cycles
50-65°C:	30 sec	
68°C:	45-60 sec/kb + (1-20 sec) 自动延长/循环*	
68°C:	10 min	

▲ 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 μ L 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 \times Spark Long Taq PCR Master Mix (with dye)
- AF0801 2 \times Spark LongHiFi PCR Master Mix (with dye)
- AF1402 SuperPure dNTP Mixture each 10mM solution
- AJ0101 Spark 2000 DNA Marker
- AJ0201 Spark 6 \times 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

