

## 产品概述

AcuGenix™ LongR Super-Fidelity Master Mix 是一款即用型 2×高保真 PCR 预混液, 采用经基因工程改造的热启动型高保真 DNA 聚合酶, 具有极高的 DNA 亲和力和连续合成能力, 对复杂模板和部分降解模板均有很好的兼容能力, 保真性约为 Taq 酶的 154 倍。通过针对性优化适配性反应体系, 使其在长片段扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。使用简单模板如 λ DNA、质粒等, 本产品可以有效扩增长达 30 kb 的片段; 使用基因组 DNA 等复杂模板, 2×Super-Fidelity Master Mix 可以扩增长达 20 kb 的片段。此外, 本产品对 PCR 抑制剂, 具有良好的抵抗能力, 可用于细菌、真菌、植物组织或全血样品的直接 PCR。

本产品 Mix 已包含热启动型高保真 DNA 聚合酶、dNTP 以及优化的缓冲体系, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 减少了移液操作, 提高了检测通量和结果的重现性。可轻松实现基因簇克隆、超长片段组装等实验。

## 产品信息

| 产品名称                                      | 货号         | 规格      |
|-------------------------------------------|------------|---------|
| AcuGenix™ LongR Super-Fidelity Master Mix | BR3M121-09 | 0.1 mL  |
|                                           | BR3M121-01 | 1 mL    |
|                                           | BR3M121-02 | 1 mL×5  |
|                                           | BR3M121-04 | 1 mL×15 |

## 保存条件

-20±5℃存储。

## 注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 请勿使用 dUTP 和带有尿嘧啶的引物和模板。
3. DNA 聚合酶经单克隆抗体修饰, 反应体系可于常温配置 (20 min 内), 但建议在使用前置于冰上, 使用后及时置于冰箱保存。
4. 扩增>10 kb 的片段时, 推荐引物长度>26 nt, 引物设计需满足一般原则。

## 使用方法

### 1. PCR 反应体系配制

- 1.1 将各组份试剂在室温或冰面上解冻后混匀, 瞬时离心。按照表 1 配制反应液:

表 1. PCR 反应体系

| 组分名称                        | 体积 (μL)  | 备注                      |
|-----------------------------|----------|-------------------------|
| 模板 <sup>a</sup>             | X        |                         |
| 2×Super-Fidelity Master Mix | 25       | 1×                      |
| Primer1 (10 μM)             | 0.5-2    | 0.1-0.4 μM <sup>b</sup> |
| Primer2 (10 μM)             | 0.5-2    | 0.1-0.4 μM              |
| ddH <sub>2</sub> O          | Up to 50 | /                       |

- a. 不同模板最佳反应浓度有所不同, 下表为 50 μL 体系推荐模板使用量:

表 2. 推荐的模板投入量

| 模板种类              | 模板使用量                        |
|-------------------|------------------------------|
| 基因组 DNA           | 50-400 ng                    |
| 质粒或病毒 DNA         | 10 pg-30 ng                  |
| cDNA              | 1-5 μL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10) |
| 粗品模板 <sup>c</sup> | 建议加入 1-2 μL                  |

b.一般情况下,引物终浓度投入 0.2 μM 即可,当出现非特异扩增时,减少引物终浓度至 0.1 μM 可提高特异性。

c.如果是全血样本,建议在 PCR 反应体系中加入 1%—2%的全血模板,在 PCR 程序预变性时间需调整到 5 min,PCR 反应结束后,4000 rpm 离心 1 min 以沉淀血细胞碎片,取上清进行下游分析;如果是真菌,细菌,动植物组织样本推荐用裂解液(货号:BR2F401)进行细胞裂解,再进行 PCR 反应。

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀,瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

## 2. PCR 扩增程序

2.1 根据表 3 设置 PCR 扩增程序:

表 3. PCR 扩增反应程序

| 程序   | 温度                   | 时间                       | 循环数   |
|------|----------------------|--------------------------|-------|
| 热盖   | 105°C                | /                        | /     |
| 预变性  | 98°C                 | 30 sec                   | 1     |
| 变性   | 98°C                 | 15 sec                   | 25-35 |
| 退火   | 56-72°C <sup>b</sup> | 15 sec                   |       |
| 延伸   | 72°C                 | 5-20 sec/kb <sup>c</sup> |       |
| 完全延伸 | 72°C                 | 2-5 min                  | 1     |
| 保温   | 4°C                  | ∞                        | 1     |

注 a: 对于大多数模板,预变性设置为 30 sec。若模板 GC 含量过高,可延长至 1 min。

注 b: 请根据引物 T<sub>m</sub> 值设置退火温度。如引物 T<sub>m</sub> 值相对较高,可删除退火步骤,使用两步法 PCR 扩增程序(使用两步法时,退火延伸温度可在 65°C-68°C 之间优化)。如果需要,可以建立一个温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度。此外,退火温度直接决定扩增特异性。如发现扩增特异性差,可适当提高退火温度。

注 c: 扩增 1~4 kb 目的片段时,延伸时间可设为 1~5 sec/kb; 扩增 4~8kb 目的片段时,延伸时间可设为 10 sec/kb; 扩增 8~12kb 目的片段时,延伸时间可设为 10~15sec/kb; 大于 12kb 建议用 20 sec/kb; 若扩增后浓度较低,可适当提高引物浓度或者提高延伸时间; 若特异性较差,扩增延伸时间可适当缩短。