

2 × Vazyme LAmp® Master Mix

P311/P312

Version 5.1



Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

Vazyme LAmp® DNA Polymerase是Taq DNA Polymerase与一种含有3'→5'外切酶活性(校对活性)的蛋白组成的混合酶,保真度是Taq DNA Polymerase的6倍。配合特别优化的缓冲体系,Vazyme LAmp® DNA Polymerase非常适合长片段的扩增,可从基因组中扩增长达21kb的片段,并且对不同来源、不同长度的模板均具有很高的扩增效率。本产品包含Vazyme LAmp® DNA Polymerase, 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,提高了通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得Master Mix 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品还提供含有电泳缓冲液和染料的版本,可在反应结束后直接进行电泳,使用方便。PCR产物的3'末端带A,可克隆至T载体,并适用于ClonExpress®快速克隆试剂盒(C112/C113)。

产品组成

组 分	P311-01 1 ml	P311-02 5 ml	P311-03 15 ml
2 × Vazyme LAmp® Master Mix	1 ml	5 ml	15 ml

组 分	P312-01 1 ml	P312-02 5 ml	P312-03 15 ml
2 × Vazyme LAmp® Master Mix (Dye Plus)	1 ml	5 ml	15 ml

储存条件

-20°C保存。

质量控制

核酸外切酶残留检测: 20 µl本品和0.6 µg λ-Hind III在37°C下孵育16小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 20 µl本品和0.6 µg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

功能检测:

1. 以10 ng人基因组DNA为模板,可以很好的扩增长度为18 kb的目的片段。
2. 以10 ng棉花基因组DNA为模板,可以很好的扩增长度为21 kb的目的片段。
3. 以1 ng λDNA为模板,可以很好的扩增长度为35 kb的目的片段。
4. 以50 ng HeLa细胞总RNA对应的cDNA为模板,可以很好的扩增长度为12 kb的目的片段。
5. 以10 ng人基因组DNA为模板,并加入5 × PCR Enhancer,可以很好的扩增长度为4.2kb的目的片段(GC含量为65%)。

应用实例

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	to 50 µl
2 × VazymeLamp® Master Mix	25 µl
模板DNA*	optional
引物1 (10 µM)	2 µl
引物2 (10 µM)	2 µl

* 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 µl反应体系推荐模板使用量：

人基因组DNA	10~200 ng
大肠杆菌基因组DNA	1~100 ng
λ DNA	0.1~10 ng
质粒DNA	0.1~10 ng

2. PCR反应条件设置

目的片段 < 5 kb

94°C	5 min (预变性)	}	30-35 cycles
94°C	30 sec		
55°C*	30 sec		
72°C	30 sec/kb		
72°C	7 min (彻底延伸)		

* 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度1-2°C即可。

目的片段 > 5 kb

94°C	1-3 min (预变性)	}	30-35 cycles
94°C	10 sec		
68°C*	30-60 sec/kb		
68°C	7 min (彻底延伸)		

* 对于 > 5 kb 的片段，推荐使用长引物，T_m值在68-70°C，把退火/延伸温度合并为68°C。这样可以显著提高扩增特异性。延长延伸时间有助于提高扩增产量。

引物设计注意事项

1. 引物3'端最后一个碱基选择C或G；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端尽量避免出现发夹结构；
4. 引物T_m值一般控制在55°C-65°C之间，扩增长片段用引物建议T_m值控制在68-70°C；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物T_m值计算；
6. 引物GC含量控制在40%-60%之间；
7. 正向引物和反向引物T_m值以及GC含量尽可能一致。