# Hieff® Long Taq DNA Polymerase 长片段DNA聚合酶

## 产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|---|---|
| Hieff® Long Taq DNA Polymerase 长片段 DNA 聚合酶 | 10107ES62 | 125 U |
| Hieff® Long Taq DNA Polymerase 长片段 DNA 聚合酶 | 10107ES78 | 5×125 U |

## 产品描述

Hieff® Long Taq DNA Polymerase 是 Taq DNA Polymerase 与一种含有 3' →5'外切酶活性的蛋白组成的混合酶，其保真性是 Taq DNA Polymerase 的 6 倍，专门用于长片段的扩增。独特的缓冲体系使 Hieff® Long Taq DNA Polymerase 可扩增长达 8 kb 的人基因组片段和 10 kb 左右的质粒模板。PCR 扩增产物的 3'端带 A，可直接用于 TA 克隆。试剂盒中的 PCR Enhancer 有助于高 GC 含量片段的扩增。

## 产品组分

| 编号 | 组分 | 产品编号/规格 | |
|---|---|---|---|
| | | **10107ES62（125 U）** | **10107ES78（5×125 U）** |
| 10107-A | Hieff® Long Taq DNA Polymerase (5 U/μL) | 25 μL | 25 μL×5 |
| 10107-B | 10× Hieff® Long Taq Buffer（$Mg^{2+}$ free） | 500 μL | 500 μL×5 |
| 10107-C | 25 mM $MgCl_2$ | 1 mL | 1 mL×5 |
| 10107-D | dNTP Mix (10 mM each) | 100 μL | 100 μL×5 |
| 10107-E | 5 × PCR Enhancer | 125 μL | 125 μL×5 |
| 10107-F | 10 × Loading buffer | 1.25 mL | 1.25 mL×5 |

## 活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74℃, 30 min 内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位（U）。

## 质量控制

**核酸外切酶残留检测：**20 μL 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA -HindIII，37℃下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。
**核酸内切酶残留检测：**20 μL 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37℃温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。
**大肠杆菌残留 DNA 检测:** 50 μL 体系中，加入 2 U 本品，以无菌 $ddH_2O$ 为模板，扩增 E.coil 16s rDNA 基因。30 个循环后扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，EB 染色，无扩增条带。

## 运输与保存方法

冰袋运输。-20°°C保存，有效期 1 年。

## 注意事项

为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

## PCR 反应体系（推荐冰上配制）

| 组分 | 体积 |
|---|---|
| $ddH_2O$ | to 50 μL |
| 10× Hieff® Long Taq Buffer（$Mg^{2+}$ free） | 5 μL |
| 25 mM $MgCl_2$ | 3-4 μL |
| dNTP Mix (10 mM each) | 1 μL |
| 5 × PCR Enhancer | 适量 |
| DNA 模板 | 适量 |
| Primer 正向 (10 μM) | 2 μL |
| Primer 反向 (10 μM) | 2 μL |
| Hieff® Long Taq DNA Polymerase (5 U/μL) | 0.5 μL |

【注】: 1）**PCR Enhancer**：推荐仅当扩增片段 GC%> 60%且优化条件也无法正常扩增时用；可能会使保真度有轻微降低。

2）**聚合酶浓度**：酶量可在 0.25-1 μL 之间调整。通常情况下加大酶量可以提高扩增产量，但有可能会使特异性下降。

3）**$Mg^{2+}$终浓度**：对于大多数由本酶催化的 PCR 反应来说，$Mg^{2+}$的最优浓度为 2 mM；如有特殊需要，可在终浓度 1.5-2.5 mM 区间内调整 $Mg^{2+}$浓度。

4）**不同模板的推荐使用量（50 μL 反应体系）**

| 模板种类 | 用量 |
|---|---|
| 动植物基因组 DNA | 10-200 ng |
| 大肠杆菌基因组 DNA | 1-100 ng |
| λDNA、质粒 DNA | 0.1-10 ng |

## PCR 扩增程序

**1）目的片段＜5 kb**

| 循环步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|---|---|---|---|
| 预变性 | 94℃ | 5 min | 1 |
| 变性 | 94℃ | 30 sec | 30-35 |
| 退火 | 55℃ | 30 sec | |
| 延伸 | 72℃ | 30 sec/kb | |
| 终延伸 | 72℃ | 7 min | 1 |

【注】: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℃即可。

**2）目的片段＞5 kb**

| 循环步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|---|---|---|---|
| 预变性 | 94℃ | 1-3 min | 1 |
| 变性 | 94℃ | 10 sec | 30-35 |
| 退火/延伸 | 68℃ | 30-60 sec/kb | |
| 终延伸 | 68℃ | 7 min | 1 |

【注】:对于> 5 kb 的片段，推荐使用长引物， Tm 值在 68-70℃，把退火/延伸温度合并为 68℃。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。