

# PrimeSTAR<sup>®</sup> LongSeq DNA Polymerase

Code No. R055S      包装量: 1 ml  
(for 40 reactions)

Code No. R055A      包装量: 1 ml x 5  
(for 200 reactions)

## 制品说明

PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase是特异性非常高的PCR酶。本制品通过对酶及Buffer的优化,提高了对于一般PCR试剂扩增困难的序列(GC/AT rich等)和长片段扩增的成功率。并且因其具有高特异性,可以进行长片段的多重PCR。

本制品是PCR反应的DNA Polymerase、Buffer、dNTP Mixture等的2倍浓度的混合物。由于在-20℃下保存不会冻结,所以不需要融化,可以直接加入引物和模板进行PCR扩增。本制品中添加了常温下能抑制DNA聚合酶活性和3' → 5' 核酸外切酶活性的单克隆抗体,适用于Hot Start PCR。

### <特点>

- 高保真
- 高特异性
- 实现了以往产品难以完成的长片段多重PCR扩增
- 简便的预混试剂

## 保 存

-20℃

注意: 使用前轻轻混匀并短暂离心。

## 扩增产物的电泳、克隆及测序

### 1) 扩增产物的电泳

PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase的PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳时,建议使用TAE Buffer。使用TBE Buffer时,电泳条带会有弥散的现象。

### 2) 扩增产物的克隆

PrimeSTAR LongSeq DNA Polymerase的PCR扩增产物大部分为平滑末端。因此,它们可直接克隆到平滑末端载体中(必要时,克隆前进行磷酸化反应)。特别推荐使用In-Fusion<sup>®</sup> Snap Assembly Master Mix (Code No. 638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956)进行In-Fusion克隆。平滑末端克隆可以使用Mighty Cloning Reagent Set (Blunt end) (Code No. 6027)。克隆到T载体时,需要在PCR产物的3'末端附加dA碱基。建议使用Mighty TA-cloning Reagent Set for PrimeSTAR (Code No. 6019)。

### 3) 限制性内切酶处理

限制性内切酶消化PCR产物前,请使用NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Code No. 740609.10/.50/.250)或苯酚/氯仿抽提除去蛋白质。特别是在使用3' - 末端突出型限制酶(例如Pst I等)进行酶切时,本酶的3' → 5' exonuclease活性如果有残留,在限制酶处理过程中,本酶会切掉3' - 突出末端。

### 4) 直接测序

由于本酶具有3' → 5' 外切酶活性,直接测序前,建议使用苯酚/氯仿抽提或使用NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (Code No. 740609.10/.50/.250)、NucleoSpin gDNA Clean-up (Code No. 740230.10/.50/.250)等除去蛋白质。

## 一般的PCR反应液组成 (共50 μl)

PrimeSTAR LongSeq Premix (2X)	25 μl (终浓度 1X)
引物 1	10 pmol (终浓度 0.2 μM <sup>*1</sup> )
引物 2	10 pmol (终浓度 0.2 μM <sup>*1</sup> )
Template	请参考模板添加量
灭菌水	up to 50 μl

## PCR反应条件

94℃	1 min <sup>*2</sup>	} 30~40 cycles
↓		
98℃	10~20 sec	
55~67℃ <sup>*3</sup>	15 sec	} 30~40 cycles
68℃	20~30 sec/kb	
or		
98℃	10~20 sec	} 30~40 cycles
68℃	20~30 sec/kb	

\*1 多重PCR时,建议每种引物的终浓度为0.2 μM。

\*2 扩增产物为富含GC序列或长片段时,推荐94℃预变性1 min。

\*3 退火温度设定为比引物的Tm值低5℃以上。

注1) 避免使用含有肌苷的引物。

注2) 避免引入过多的EDTA。

注3) 稀释模板和引物时,建议使用TE缓冲液(10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA)或灭菌水。

### <PCR条件的选择>

- 强烈建议引物长度约35 mer (Tm值>70℃)。
- Tm值在70℃以下时,建议使用比引物的Tm值低5℃以上的退火温度进行3-step PCR,可以获得良好扩增。
- 对于多重PCR引物设计,建议每条引物的Tm值大致相同。
- 通过使用3' 端硫代磷酸化碱基的引物,可以获得良好扩增。

## 模板添加量

人基因组 DNA	10~500 ng
大肠杆菌基因组 DNA	100 pg~200 ng
质粒 DNA	10 pg~1 ng
cDNA	25~750 ng

PrimeSTAR is a registered trademark of Takara Bio Inc.

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.

### 注意

本产品仅供科学研究使用,不能用于人、动物的医疗或诊断程序,不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准,不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品,或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权,请联系我们,或访问我们网站www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作,最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用Takara产品,您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202503Da