

# M5 “长又亮”超保真酶（单酶，不带其他组分） 使用说明书

| 产品名称                    | 单位     | 货号       |
|-------------------------|--------|----------|
| M5 “长又亮”超保真酶（单酶，不带其他组分） | 100U   | MF989-01 |
| M5 “长又亮”超保真酶（单酶，不带其他组分） | 5x100U | MF989-05 |

## 【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用，可置于 4°C 保存至少六个月。

## 【产品简介】

聚合美 Magic Neo 超保真 DNA 聚合酶在 Magic 超保真酶系列技术基础上，应用了聚合美特制的<延伸增强剂>，抑制<PCR 停滞现象>，不仅保持了 Magic 超保真酶的高保真性，更明显提高了对**粗样品**模板的扩增效率。Magic Neo 具有 5' 到 3' DNA 聚合酶活性和 3' 到 5' 的外切酶活性(即校对活性)，能够纠正 DNA 扩增过程中产生的碱基错配现象，在标准缓冲液中其保真度约相当于普通 Taq DNA Polymerase 的 50 倍、Pfu DNA Polymerase 的 6 倍。同时该酶还具有快速的 DNA 合成速度，约相当于普通 Taq DNA Polymerase 的 4-6 倍、Pfu DNA Polymerase 的 8-12 倍。该酶合成能力很强，即使是复杂的模板，也能快速准确的完成反应，尤其适用于对保真性要求高的 DNA 长片段的快速扩增，如基因克隆、测序、定点突变、SNP 分析等，也可用于 DNA 片段的末端补平。使用聚合美 Magic Neo 超保真 DNA 聚合酶扩增得到的 PCR 产物无 3' 端突出碱基，不可直接用于 TA 克隆，可以用聚合美特制的平末端 TOPO 克隆（货号 MF021 和 MF022）。

## 【单位定义】

用大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 74°C、30 分钟内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物所需的酶量。

## 【产品组份】

M5 “长又亮”超保真酶（单酶，不带其他组分） (1U/μl) 100 μl

## 【质量控制】

以 λ DNA 为模板，能有效扩增 20 kb 的 DNA 片段；以基因组 DNA 为模板，能有效扩增单拷贝基因；无内切酶和外切酶污染。

## 【适用范围】

高保真扩增，长片段的快速扩增，如基因克隆、定点突变等；高 GC 含量、具有二级结构的复杂模板的扩增；**粗样品的直接扩增**。

## 【操作示例】

### 按下表配制 PCR 反应体系：

|                                        |          |
|----------------------------------------|----------|
| 2xMagic Neo PCR Buffer                 | 12.5 μl  |
| 2mM dNTPs                              | 2.5 μl   |
| Primer 1 (10 μM)                       | 0.5 μl   |
| Primer 2 (10 μM)                       | 0.5 μl   |
| Template DNA*                          | 10-200ng |
| Magic Neo High-Fidelity DNA Polymerase | 0.5μl    |
| ddH <sub>2</sub> O 补足至                 | 25 μl    |

### 建议的 PCR 条件：

|                  |                |
|------------------|----------------|
| 95°C             | 2 min.         |
| 32-36 cycles of: |                |
| 95°C             | 25 sec.        |
| 53-64°C          | 20-25 sec.     |
| 68°C             | 15-30sec./1 kb |
| 68°C             | 5 min.         |
| 保持 4°C forever   |                |

<\*模板量：10~200 ng 基因组 DNA，10~30 ng 质粒，或 1~2 μl RT-PCR 反应后的 cDNA。以上举例如为常规 PCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系>。

**注意：大部分条件下，退火温度不需要特殊设置；在个别难扩的情况下，按 Tm+3 会有改善！**

## 【常见问题解答 (FAQ)】

### Q1: 我以 cDNA 做模板, 为何扩增不到条带?

A1: 以 cDNA 做模板, 扩增不到条带的可能原因如下:

- 1) 提取的 RNA 质量不好, 部分或者完全降解, 导致反转录得到的 cDNA 模板也是部分截断序列或者完全没有序列。模板质量不好, PCR 扩增自然就失败了。
- 2) 目标基因在所提取组织中没有表达, 或者表达量极低, 导致反转录得到的 cDNA 中没有或者极微量的模板, 在常规 PCR 循环数比如 35 个循环的条件下, 扩增不到能够检测的条带。

**解决方案: 以基因组 DNA 做模板, 做个正对照 (如果有内含子, 要适当加大延伸时间)。**

如果正对照能扩增出来, 就说明超保真酶和引物没有问题, 是 cDNA 模板的问题, 需要重新提取 RNA 做反转录。

如果正对照也没有扩增出来, 那有可能是引物降解或者引物失效的原因, 重新合成引物。

### Q2: 我的片段比较特殊, 局部区域 GC 含量 >80%, 用了很多品牌的超保真酶都没有扩增出来, 怎么办?

A2: 对于高 GC 片段的扩增, 除了做好正对照, 排除引物和模板的原因, 更需要摸索退火温度和 PCR 程序, 采用 touchdown 程序有时会有改善, PCR 体系中额外添加 DMSO 或者甜菜碱可能会有改善。此外, 把延伸速度降下来, 可能会对结果有所改善。

### Q3: 如果我是粗提样本做模板, 怎么办?

A3: 对于粗提物做模板, 需要将 PCR 速度降下来, 比如正常是 4-6kb/min, 现在要降到 1-2kb/min, 对 PCR 成功率有很大改善。

### Q4: 如果我的片段很长 (>10kb), PCR 程序该怎么设置?

A4: 对于超长片段扩增, PCR 程序其他地方不需特别注意, 只要注意 **延伸速度** 比正常稍微慢点, 但是比粗提物做模板要快点, 一般 2-3kb/min 为宜。过慢的速度导致 PCR 反应的整体所需时间太长而导致超保真酶失活, 过快的速度, 不利于扩增长片段中可能存在的 GC 岛。

### Q5: “长又亮” Neo 超保真酶的保真性如何?

A5: 其保真度约相当于普通 Taq DNA Polymerase 的 50 倍、Pfu DNA Polymerase 的 6 倍。其实所有品牌超保真酶的保真性都差不多, 不要被某些品牌说是 Taq 酶的 200 多, 500 多倍所迷惑, 都是宣传噱头, 因为大部实验, Taq 酶的保真性就能满足。

### Q6: “长又亮” Neo 超保真酶有 mix 形式吗?

A6: 其对应的 mix 货号是 MF739。mix 形式和单酶形式扩增能力差不多, 只是在个别难扩的样本中, 单酶可以添加 DMSO 或者甜菜碱来改善扩增。

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。