



## WiseAmp™ Long-Range PCR Kit

—长片段 PCR 高效扩增试剂盒

**Cat. No. PC001 (100 reactions)**

GeneCopoeia, Inc.      广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城  
掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼  
邮编: 510663  
电话: 4006-020-200  
邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)  
网址: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)  
[www.igenebio.com](http://www.igenebio.com)

## 使用手册

### WiseAmp™ Long-Range PCR Kit

- I. 产品介绍
- II. 试剂盒组份
- III. 质量控制检测
- IV. 实验步骤
- V. 引物设计
- VI. 扩增问题解答和建议
- VII. 使用许可与质量保证

#### I. 产品介绍

WiseAmp™ Long-Range PCR Kit 是专用于长片段扩增的聚合酶产品。产品中的 Long-Range polymerase 是由 Taq DNA 聚合酶和一种高保真 DNA 聚合酶特殊组成的混合酶，兼具 Taq DNA 聚合酶的强扩增能力和高保真 DNA 聚合酶的 3'→5' 外切酶校对活性。同时，配合特别优化的缓冲体系，可实现从基因组 DNA 中有效扩增长达 16 kb 的靶标。

本产品中已包含反应所需的 polymerase、Mg<sup>2+</sup>、dNTP 等，只需准备模板、引物及灭菌水，即可对靶点进行快速、特异的扩增。

#### II. 试剂盒组份

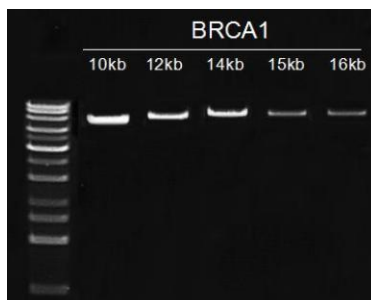
WiseAmp™ Long-Range PCR Kit (Cat.No. PC001) 组份如下表所示。

组份货号	组份	体积
PC001-01	Long-Range Polymerase	150 μL
PC001-02	10× Long-Range PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus)	500 μL
PC001-03	25 mM dNTP	60 μL

**储存条件：**为保证使用效果，请将试剂盒保存于 -20 °C，注意避免反复冻融，建议分装储存。

#### III. 质量控制检测

长片段 PCR 扩增：经扩增检测，以人类基因组 DNA 为模板，可扩增出长度为 16kb 的目的片段。质检凝胶电泳图谱如下图所示，对照 Marker 为 GeneCopoeia 15kb DNA Ladder。



## IV. 实验步骤

1. 将试剂盒中的各组分至于室温解冻，并迅速置于冰上备用。

**注意：**

- Long-Range Polymerase 请储存于-20℃，避免反复冻融或长时间置于 4℃或室温条件中。
- 10× Long-Range PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> plus) 较为粘稠，使用前请振荡混匀，避免 Mg<sup>2+</sup>经长时间静置形成梯度浓度；配置反应体系时请轻柔缓慢吸取，并注意将枪头吹打干净。
- 请使用灭菌 ddH<sub>2</sub>O 稀释引物

### 2. 推荐的 PCR 反应体系 (50 μL)<sup>a</sup>

成分	体积	终浓度
10× Long-Range PCR Buffer(Mg <sup>2+</sup> plus)	5 μL	1× <sup>b</sup>
Long-Range Polymerase	1.5 μL	/
25 mM dNTP	0.6 μL	300 μM
5 uM Forward Primer	4 μL	0.4 μM <sup>c</sup>
5 uM Reverse Primer	4 μL	0.4 μM <sup>c</sup>
模板 DNA <sup>e</sup>	Variable	as required <sup>d</sup>
ddH <sub>2</sub> O	补足至 50 μL	

**注意：**

- 请在冰上操作并使用薄壁 PCR 管进行扩增反应。
- Long-Range polymerase 的最适 Mg<sup>2+</sup>浓度为 2.0 ~ 2.5 mM。反应体系中 1× Long-Range PCR Buffer 的 Mg<sup>2+</sup>浓度为 2.0 mM，这个浓度适用于大多数扩增反应。如有需要，可以用 MgSO<sub>4</sub> 以 0.5-1.0 mM 的浓度递增，以调节 Mg<sup>2+</sup>浓度。
- Forward Primer 和 Reverse Primer 的终浓度一般介于 0.1 ~ 1.0 μM 之间。通常将引物的终浓度定为默认的 0.4 μM 时，即可获得较好的实验结果。
- 本试剂盒对基因组 DNA 的扩增灵敏度可达 1 ng，具体取决于模板的质量和目的序列的长度等因素。然而为保险起见，推荐的基因组 DNA 用量范围为 10 ng ~ 1000 ng。另外，本试剂盒也可用于质粒 DNA 的扩增，推荐的质粒 DNA 用量范围为 1 pg ~ 10 ng。
- 对于富含 GC 的复杂模板，可以添加 DMSO 和甲酰胺提高反应效率。

### 3. PCR 反应条件设置

循环数	步骤	温度	时间
1	预变性	94°C	5 min
30-35*	变性	94°C	30 sec
	延伸	65°C	1 min/kb*
1	终延伸	65°C	10 min
	保温	4-10°C	-

**注意\***：扩增 10 kb 以上长片段时，为提高产物量，可将循环数增加至 35，且可适当延长延伸时间。

## VI. 引物设计原则

1. 引物 3'端最后一个碱基尽量选择 C 或 G
2. 引物 3'端尽量避免出现发夹结构
3. 引物的 GC 含量控制在 40%-60%内
4. 对于扩增长片段，建议引物长度为 **24-32 bp**，同时 **Tm 值** 尽量控制在 **65-70°C**
5. 正向引物和反向引物 Tm 值以及 GC 含量尽量保持一致

## VII. 扩增问题解答和建议

本试剂盒暂不提供试剂质控品，若您的实验无法扩增出目的片段，请以 **human genomic DNA** (250 ng) 为模板，并根据需要合成以下引物进行检测，以检查是否为本试剂盒质量问题。引物序列如下：

引物名称	产物长度	引物序列 (5'→3')
β-globin 10kb-PF	10kb	TAAGCAGGACAGACAGGCAAGCAAGAAG
β-globin 10kb-PR		CGGCACTACCAAGCCAACACTACAAGAA
BRCA1 10kb-PF	10kb	CTGCTGCTCATACTACTGATACTGCTGG
BRCA1 10kb-PR		TTGGCTCACTGTAACCTCCTACCTTTTCG
β-globin 12kb-PF	12kb	CAAGCATTATGAGGTCAGCGTAGGGTC
β-globin 12kb-PR		TTCTGTGGCAATCACTTCAAACCTCCTGT
BRCA1 12kb-PF	12kb	TTGGAAGAGCAGAGGAACTATTTACTGGGTG
BRCA1 12kb-PR		GAAAGTGGTGCATTGATGGAAGGAAGC
β-globin 15kb-PF	15kb	CTATTCCATTCTTCGTGGTATTTGTTGC
β-globin 15kb-PR		ACTTAGAGGTTTCAGGATGCTGGTTTGTG
BRCA1 15kb-PF	15kb	CTTTGTATTCCCAGCACAGGGTTCTAT
BRCA1 15kb-PR		CTTTATTCTTTGGCCTTTGGACTCTTG

## VIII. 使用许可与质量保证

### 使用限制

以下条款适用于 WiseAmp™ Long-Range PCR Mix Kit 产品。若您不能接受这些条款，请在 5 个自然日内将产品完整退还给 GeneCopoeia。产品购买者需遵守最终用户限制许可条例。本产品仅限购买者内部研究使用，不得用于人体或诊断、治疗。未经 GeneCopoeia 事先书面同意，本产品不得转售，不得重新包装或修改后转售，不得用于生产商用产品。

### 质量保证

GeneCopoeia 保证产品与产品数据表中描述的规格保持一致。若经 GeneCopoeia 证实产品未达到规格要求，GeneCopoeia 将为您替换产品。若无法替换，GeneCopoeia 将退款给购买者。此质量保证仅适用于最初产品购买者。GeneCopoeia 仅负责替换产品或退还实际的购买金额。对于由使用或不正确使用产品产生的损害或使用其他相关材料和试剂产生的损耗，GeneCopoeia 不承担责任。GeneCopoeia 不提供任何形式的明示的或者默示的保证，包括对适销性、适用于特定用途的默示保证。

GeneCopoeia 致力于为消费者提供高质量的研究产品。如果您对 GeneCopoeia 的产品有任何问题或疑虑，请拨打电话 4006-020-200 联系我们。

© 2018, GeneCopoeia, Inc

GeneCopoeia, Inc.  
9620 Medical Center Drive  
Rockville, MD 20850  
Tel: 301-762-0888 Fax: 301-762-3888  
Email: [inquiry@genecopoeia.com](mailto:inquiry@genecopoeia.com)  
Web: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)

广州易锦生物技术有限公司  
广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路 3 号  
广州国际企业孵化器 F 区 8 楼  
邮编: 510663  
电话: 4006-020-200  
邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)  
网址: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com) (英文) [www.igenebio.com](http://www.igenebio.com) (中文)