

GNM 2xPCR 长片段扩增反应液说明书

【产品名称】 GNM 2xPCR 长片段扩增反应液

【产品货号及规格】

货号	规格
RXD08GS	25ul/80T, 1ml

【产品组成】

组分
GNM 2xPCR 长片段扩增反应液
ddH ₂ O

【产品简介】

GNM 2x 长片段 PCR 扩增预混液采用工程化改造聚合酶、核苷三磷酸混合物、高效延伸助剂及精密调校的反应基质，用户仅需添加特异性引物与模板即可启动扩增流程，显著简化了实验操作步骤。该定制型聚合酶同时具备正向合成酶功能与校正外切酶活性，其复制准确性较常规 Taq 酶提升近 80 倍，生成的 PCR 产物末端呈平齐结构。该酶通过双重机制实现热启动调控：在 55℃ 及以下温度条件下完全抑制酶活，经 98℃ 高温处理 30 秒后迅速激活聚合功能，有效支持 100bp 至 40kb 核酸片段的稳定扩增，尤其适用于长度超过 10kb 的大片段 DNA 合成，其阶梯式延伸速率可达每千碱基 10 秒，极大缩短实验周期。

该技术体系展现出卓越的持续合成能力、分子扩增保真度、目标片段捕获效率及抗逆性表现，兼容 Sanger 测序、下一代测序平台及第三代长读长测序技术的标准化实验流程，广泛适用于分子克隆构建、遗传图谱分析等下游生物技术应用场景。

【使用说明】

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系

所有操作请在冰上进行，组分解冻后请充分混匀，用完之后请及时放回-20℃保存。

组分	25μL 反应体系	终浓度
GNM 2xPCR 长片段扩增反应液	12.5μL	1x
Forward Primer, 10μM	0.5-1μL	0.2-0.4μM
Reverse Primer, 10μM	0.5-1μL	0.2-0.4μM
Template DNA	适量	<200ng

ddH ₂ O	补足到 25 μ L	/
--------------------	----------------	---

2. PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 $^{\circ}$ C	30s-3min	1
变性	98 $^{\circ}$ C	10s	30-35 循环
退火	根据引物 T _m 定	10s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	1-10s/kb	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5min	1

注：

- 1) 预变性：质粒 DNA、 λ DNA、简单基因组 DNA 等模板的预变性时间可设置为 30s-1min，对于粗样品、高 GC、人基因组等复杂的模板，预变性时间可延长至 3min。
- 2) 退火：GNM 2xPCR 长片段扩增反应液中含有较高离子浓度，反应退火温度可设置高于理论引物 T_m 值 2-3 $^{\circ}$ C，如无法得到理想的扩增效率时，可梯度改变退火温度，进行优化；发生非特异性反应时，适当提高退火温度。
- 3) 延伸：根据其目的片段长度设置延伸时间， ≥ 10 kb 设置延伸时间 10 s/kb，如片段超长且扩增条带弱可适当增加延伸时间，扩增片段 < 10 kb 设置延伸时间 1-5s/kb。
- 4) 循环数：可根据扩增产物的下游应用设定循环数，如果循环次数太少，扩增量不足，循环次数太多，错配机会会增加，所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

【常见问题及解决方案】

1. 扩增失败或产物量不足

- 1) 建议适度上调引物添加量；
- 2) 实施梯度退火程序以确定最佳退火温度；
- 3) 延长延伸阶段时长或增加循环重复次数；
- 4) 优化模板用量或选用高纯度核酸样本。

2. 非特异性扩增或电泳条带扩散

- 1) 尝试提升退火温度以增强特异性；
- 2) 适当降低引物终浓度；
- 3) 减少热循环次数以避免过度扩增；
- 4) 调整模板投入量或使用高纯度模板；
- 5) 重新设计引物序列以优化退火特异性。

【保存条件及有效期】 -20 \pm 5 $^{\circ}$ C 保存，有效期 3 年，避免反复冻融。

【运输条件】 2-8℃运输

【基本信息】

生产企业名称/售后服务单位：北京金诺美科技股份有限公司

住所：北京市北京经济技术开发区经海四路 25 号院 16 号楼-01-5 层

联系方式：010-67880228

【说明书版本及修改日期】 本说明书已正式发布，版本为 V1.1，本次修订日期为 2025 年 09 月 16 日。

【免责声明】 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。