

**描述:** 3GKOD PCR Mix 是 KOD 突变体与 RAPA3G Taq 酶混合品制备的全能型 PCR 预混物, 含有 dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、红色电泳指示染料, 使用时只需加入模板和引物即可进行 PCR 扩增。该制品无 3'-5' 外切活性, 扩增的 PCR 产物 3' 端含有 "A" 尾巴。

KOD DNA 聚合酶具有快速、长片段扩增的能力, 而 3GTaq DNA 聚合酶, 其具有很高的杂质耐受性, 因此, 该 Mix 具有高产、高成功率、长片段通扩的能力。不仅能扩增纯度较差的 DNA 模板, 还能扩增复杂的长片段模板。该制品具有出色的扩增成功率, 可轻松扩增 8kb 的基因组 DNA, 或 20kb 的 λDNA 模板片段。

#### 组分

名 称	40Tx50μl	400Tx50μl
5x3GKOD PCR Mix	400 μl	1 ml x4

(1) 储存: -20°C 可保存 3 年。

(2) 1x3GKOD Mix 中含 3GTaq 酶 (10mU/μl)、KOD 酶 (10mU/μl)、Mg<sup>2+</sup> (1.5 mM), dNTP (0.2 mM), 红色指示染料。

(3) 引物、模板使用参考表

在 1x 反应体系下	引物浓度 (nM)	模板浓度 (ng/μl)
<3kb	200	基因组 (0.01-1) 简单模板 (0.01-0.1)
>3kb	100	基因组 (0.05-2) 简单模板 (0.01-0.1)

(4) 扩增片段 GC 含量 >65% 时, 推荐添加 5xQ Solution (货号: A3002) 至 1x 浓度, 来提升 GC 含量的扩增性能。

#### 使用说明:

1. 按照如下组分配制 50 μl PCR 反应体系:

5x3GKOD PCR Mix	10 μl
上游引物 (10μM)	1 μl
下游引物 (10μM)	1 μl
模板 DNA	x μl
ddH <sub>2</sub> O upto	50 μl

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

		<1kb	1-3kb	>3kb
预变性	95°C 2min	2min	2min	2min
循环 1	95°C 15s	15s	15s	15s
5 Cycle	65°C 30s	1min	2kb/min	
循环 2	95°C 15s	15s	15s	15s
23 Cycle	55°C 15s	15s	15s	15s
	72°C 30s	1min	2kb/min	
未延伸	72°C 2min	2min	5min	

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 T<sub>M</sub> 值 (50-70°C) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 28 (5+23), 如产物扩增亮度不足, 则增加循环 2 的次数到 25-28 个, 通常不宜超过 28。(2) 如果仍然不能获得良好的扩增结果, 则可以改变, 循环 2 中的退火温度为 50-65°C (上表中为 55°C)。

3. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5 μl, 电泳结束在紫外灯下检测条带。