

2 ×Taq Master Mix (Dye)

P101-3

产品简介

本产品包含最新升级版的 Taq DNA Polymerase，比普通 Taq 酶具备更高的保真度。Mix 中混合有 dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得 Master Mix 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品提供含有电泳缓冲液和染料的版本，可在反应结束后直接进行电泳，使用方便。PCR 产物的 3'端带 A，可克隆至 T 载体，并适用于本公司 CloneUFO[®]快速克隆试剂盒。

产品组成

组 分	P101-3 (5 ml)	P101-3 (15 ml)	P101-3 (50 ml)
2 ×Taq Master Mix (Dye)	5 ml	15 ml	50 ml

储存条件

-20℃保存，于-20 ~ 0℃运输。▲避免反复冻融。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74℃ 30 min 内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测：20 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 74℃下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：20 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37℃温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测：20U 本品和 1 μg Hela 细胞总 RNA 在 37℃下孵育 30 min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测：50 μl 体系中，以 ddH₂O 为模板，扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1%琼脂糖凝胶电泳，染色，无扩增条带。

功能检测：以 10 ng λDNA 为模板扩增 30 个循环，1%琼脂糖凝胶电泳，染色，可见各自单一的目的条带。

实验方案

1. 反应体系配制:

组分	用量
ddH ₂ O	to 50 μ l
2 \times Taq Master Mix (Dye)	25 μ l
模板 DNA *	optional
引物 1 (10 μ M)	2 μ l
引物 2 (10 μ M)	2 μ l

*不同模板最佳反应浓度有所不同, 下表为 50 μ l 反应体系推荐模板使用量:

类别	添加量
人基因组 DNA	0.1 ~ 1 μ g
大肠杆菌基因组 DNA	10 ~ 100 ng
λ DNA	0.5 ~ 10 ng
质粒 DNA	0.1 ~ 10 ng

2. PCR 反应条件设置:

步骤	温度	时间	阶段	循环数
预变性	94 $^{\circ}$ C	5 min	Stage 1	Reps: 1
变性	94 $^{\circ}$ C	30 sec		
退火*	55 $^{\circ}$ C	30 sec	Stage 2	Reps: 30 ~ 35
延伸	72 $^{\circ}$ C	60 sec/kb		
彻底延伸	72 $^{\circ}$ C	7 min	Stage 3	Reps: 1

* 退火温度需要根据引物退火温度调整, 一般设置成低于引物退火温度 1 ~ 2 $^{\circ}$ C 即可。

引物设计注意事项

1. 引物 3'端最后一个碱基选择 C 或 G;
2. 引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配;
3. 引物 3'端尽量避免出现发夹结构;
4. 引物 T_m 值控制在 55 $^{\circ}$ C ~ 65 $^{\circ}$ C 之间;
5. 引物额外附加序列, 即与模板非配对序列, 不应参与引物 T_m 值计算;
6. 引物 GC 含量控制在 40% ~ 60% 之间;
7. 正向引物和反向引物 T_m 值以及 GC 含量尽可能一致。