

## 2×Taq MasterMix (Dye)

目录号: P34721S (1 ml)

P34721M (5 ml)

P34721L (25 ml)

保存条件: -20℃

### 产品内容

Component	P34721S	P34721M	P34721L
	1 ml	5 ml	25 ml
2×Taq MasterMix (Dye)	1 ml	5×1 ml	5×5 ml
ddH <sub>2</sub> O	1 ml	5×1 ml	5×5 ml

注意: 2×Taq MasterMix含有Taq DNA Polymerase, 3 mM MgCl<sub>2</sub> 和400 μM each dNTP。

### 产品简介

Taq MasterMix是由Taq DNA Polymerase、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂组成的预混体系,浓度为2×。预配好的PCR混合液使操作更加简单快捷,并可最大限度地减少人为误差和污染。独创的MasterMix配方使扩增产物得率高,重复性强,稳定性好。本产品已加入染料(蓝色),反应结束后可直接进行电泳检测。扩增得到的PCR产物3'端附有一个“A”碱基,因此可直接用于T/A克隆。主要适用于PCR法扩增DNA、DNA序列测定等实验。

### 质量控制

经检验无外源核酸酶活性;PCR方法检测无宿主残余DNA;能有效地扩增多种基因组中的单拷贝基因。

## 使用方法

以下举例为以人基因组DNA为模板，扩增1 kb的片段的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

试剂	50 $\mu$ l反应体系	终浓度
2 $\times$ Taq MasterMix (Dye)	25 $\mu$ l	1 $\times$
Forward Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Template DNA	<0.5 $\mu$ g	<0.5 $\mu$ g/50 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l	

注意：引物浓度请以终浓度0.1-1.0  $\mu$ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

### 2. PCR反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	94 $^{\circ}$ C	2 min	} 25-35 个循环
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s	
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度 $T_m$ 低5 $^{\circ}$ C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，本产品Taq DNA Polymerase的扩增效率为2 kb/min。
- 3) 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；如果循环次数太多，错配机会会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。