

BBM2268 Taq PCR Master Mix (2X 含染料)

产品简介:

2X Taq PCR Master Mix (含染料) 是使用 Taq DNA Polymerase 配制的 PCR 反应预混液, 已包含反应缓冲液、dNTP 等组分, 方便快捷, 能减少 PCR 操作过程中的污染。使用时只需取适量 2X Taq PCR Master Mix (含染料), 加入模板和引物, 并加入 ddH₂O 补足体积, 使反应体系浓度为 1× 即可进行 PCR 反应。

该 Mix 最长可扩增 5 kb DNA 片段, 具有良好的扩增特异性和模板兼容性, PCR 产物 3' 端带突出 A 碱基, 纯化后可直接用于 T/A 克隆。PCR Mix 中包含两种染料, PCR 产物无需添加 Loading Buffer 可直接点样电泳, 且电泳过程中会出现两个指示条带。该染料不影响 PCR 扩增效率, 但对于需要对 PCR 产物进行吸光度、荧光等光学分析的实验, 建议在分析前对 PCR 产物进行纯化, 或使用无染料的 2X Taq PCR Master Mix (博美货号 BBM2258)。

产品组成:

组分/规格	BBM2268	BBM2268	BBM2268
2X Taq PCR Master Mix (含染料)	1ml	5×1ml	100×1ml

质量控制

核酸内切酶活性检测

将 25 μl 2X Taq PCR Master Mix (含染料) 与 200ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50 μl 反应体系, 在 37℃ 下, 共同温育 4h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性检测

将 25 μl 2X Taq PCR Master Mix (含染料) 与 15ng 双链 DNA 片段配制成 50 μl 反应体系, 在 37℃ 下温育 16h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
2×Taq PCR Master Mix (含染料)	25 μl	1×
正向引物(10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物(10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
DNA 模板 ^a	X μl	
ddH ₂ O	To 50 μl	

a、引物推荐终浓度为 0.2~0.4 μM, 效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整;

B、不同模板最佳反应浓度有所不同, 以 50 μl 体系为例: 模板为基因组 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10~400 ng; 当模板为质粒或病毒 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10 pg~20 ng。

2. 常规 PCR 反应程序

步骤	温度	时间
预变性 ^a	94℃	3~5 min
变性	94℃	30 sec
退火	55~65℃	30 sec
延伸 ^b	72℃	30~60 sec/kb
终延伸	72℃	5 min

30-35 Cycles

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，对于一些复杂模板，例如：菌液、菌落（尤其是酵母）的 PCR 扩增，预变性时间可延长至 10 min，以提高预变性效果；

b. 关于延伸速率，当目的片段长度不超过 2 kb 时，推荐使用 30 sec/kb；当目的片段长度大于 2 kb 时，推荐使用 60 sec/kb。

注：使用酵母菌液作为 PCR 扩增模板时，建议扩增的目的片段长度不超过 2.5 kb，若超出 2.5 kb，酵母菌液需要预先进行破壁处理。

3. 凝胶浓度对应的染料迁移距离

琼脂糖凝胶浓度	金色条带	蓝色条带
0.8%	~80 bp	4000 bp
1.0%	~40 bp	2000 bp
1.5%	~20 bp	1500 bp
2.0%	<10 bp	1200 bp
2.5%	<10 bp	1200 bp
3.0%	<10 bp	1200 bp

注：染料会影响吸光

储运条件：

长期保存请于-20℃保存，避免反复冻融。