

Version 1

Code No. AG12312

AdeptTect Super Pro Taq 快速PCR预混液 (2X, 含染料)

AdeptTect Super Pro Tag Fast PCR Master Mix (2X, dye plus)

包装量: 120 rxns 保存温度: -20 ℃

▶ 产品概述

本产品为适用于快速 PCR 反应的即用型 2X 预混液,进行 PCR 反应时,只需向预混液中加入模板和引物即可进行扩增,操作简便,可最大限度的减少人为误差。本产品中的 Super Taq DNA Polymerase 具有卓越的扩增效率、抗干扰性能、扩增速度、扩增灵敏度和扩增特异性,结合优化的 buffer,可进行快速 PCR 反应,2 kb 以内的扩增速度最快可达 1 sec / kb,大大节省了 PCR 反应的时间。

本产品中还加入了电泳测试时所需的色素试剂,溶液呈现 紫红色,PCR 结束可直接进行电泳检测,在较短时间内即可获 得检测结果。大部分 PCR 产物的 3¹ 端带有一个 A 碱基,可直接克隆于 T 载体。

> 保存及运输

保存温度: -20℃保存

运输温度:干冰运输或-20℃冰袋运输

> 注意事项

- 1. 2X Super Pro Taq Fast PCR Master Mix (dye plus) 使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部,减少损失,并用移液枪轻轻吸打混匀后再使用,过程中尽量避免起泡,使用时建议存放于冰盒内,使用完后建议尽快置于 -20℃保存。
- 2. 反应体系需要在冰上配制,最后将配制好的反应液放置于 PCR 仪中反应。

▶ 产品组成

#

2X Super Pro Taq Fast PCR Master Mix (dye plus) 1 ml x 3 pcs

> 实验操作

1. 配制反应体系

首先按照下表所示配制 PCR 反应液*1:

组分名称	反应终浓度	50 μ l体系*4
2X Super Pro Taq Fast PCR	1X	25 μ Ι
Master Mix (dye plus)*2		
Template	≤500 ng	_*3
Primer F (10 µ M)	0.4 μ M* ⁵	2μΙ
Primer R (10 µ M)	0.4 μ M* ⁵	2μΙ
RNase free water	_	Up to 50 μl

- *1: 为了获得更好的扩增特异性,建议在冰上配制反应液。
- *2:溶液应避免反复冻融,防止降低酶活性;首次使用时,短暂离心将所有的溶液 收集至离心管底部后进行使用,减少损失;使用时应轻柔混匀(避免起泡), 缓慢吸取。
- *3: 使用纯化的基因组 DNA 为模板, 一般推荐模板量 ≤500 ng。
- *4: 推荐使用 50 μ l 体系,可获得较好的 PCR 扩增效果;若需改变反应总体系,则 应按比例减少各组分的加入量。
- *5: 引物通常使用终浓度为 0.4 µ M, 可根据实验结果在 0.2 ~ 1.0 µ M 范围内调整。



2. 反应条件(以三步法扩增为例)

配制完反应液后,按照下表条件进行 PCR 反应:

步骤	温度	时间	循环数
预变性*1	95°C	2 min	1
变性*2	95°C	15 sec)
退火*3	60°C	15 sec	30 ~ 35*5
延伸	72℃	_*4	J
终延伸	72℃	5 min	1

- *1: 若扩增简单裂解模板,一般将预变性设置为 95℃ 2 min,可根据模板或基因复杂程度在 2~5 min 范围内调整;若扩增纯化后 DNA 模板,根据不同的目的片段,缩短预变性时间或者省略预变性步骤。
- *2: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般设置 95℃, 10 ~ 15 sec 或 98℃, 5 ~ 10 sec。
- *3: 退火温度主要取决于上下游引物的 Tm 值,通常可按照 Tm ±5℃ 设定。
 - 如扩增产量低可尝试降低退火温度;
 - 如扩增特异性差可适当提升退火温度或者使用两步法扩增;
 - 如引物 Tm 值较高或者三步法 PCR 扩增结果不好时可尝试使用两步 法扩增(两步法 PCR 反应程序可参考附录)。

- *4: 延伸时间可以根据需求进行调整, 具体如下:
 - 2 kb 以内片段延伸速度推荐 1 sec / kb;
 - 2 kb ~ 7 kb 片段延伸速度推荐 15 sec / kb;
 - 7 kb 以上片段延伸速度推荐 30 sec / kb。

注:較复杂片段(如 GC 含量较高、粗製模板)、模板量较低或者扩增结果不理想时意 该延长驱伸时间。

*5: 一般推荐使用 30 个循环进行扩增,若扩增条带较弱,可尝试增加循环数至 35 个循环。

> 结果检测

反应结束后,取 $2\sim5~\mu I$ PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测产物浓度及特异性。

▶ 附录:两步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	1
变性	95℃	ן 15 sec	00 05
延伸	68°C	15 sec / kb	30 ~ 35
最终延伸	72℃	5 min	1

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn