

3G Taq[®] Master Mix for PAGE (Red Dye)

P115

Version 21.1



产品概述

本产品包含3G Taq DNA Polymerase、dNTP Mix、可视化红色染料以及优化的缓冲体系，使用方便，减少污染，提高了检测通量及结果的重现性。3G Taq DNA Polymerase相比于野生型Taq DNA Polymerase具有更高的抑制剂耐受能力及扩增效率。本品已加入可视化红色染料，可在反应结束后直接进行聚丙烯酰胺凝胶电泳及琼脂糖凝胶电泳，操作简便。

产品组分

组 分	P115-01	P115-02
2 × 3G Taq Master Mix for PAGE (Red Dye)	5 ml	10 × 5 ml

保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输。

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物等DNA的扩增反应。

注意事项

引物设计

1. 引物3'端最后一个碱基最好为G或者C；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端应避免出现发夹结构；
4. 正向引物和反向引物的T_m值相差不超过1°C为佳，T_m值调整至55 ~ 65°C为佳(引物T_m值推荐使用Primer Premier 5进行计算)；
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. 引物的GC含量控制在40% - 60%之间；
7. 引物A、G、C、T整体分布要尽量均匀，避免使用GC或者AT含量高的区域；
8. 引物内部或者两条引物之间避免有5个碱基以上的互补序列，两条引物的3'端避免有3个碱基以上的互补序列；
9. 引物设计完毕请使用NCBI BLAST功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

实验流程

反应体系

ddH ₂ O	To 50 µl
2 × 3G Taq Master Mix for PAGE (Red Dye)	25 µl
Primer 1 (10 µM)	2 µl
Primer 2 (10 µM)	2 µl
Template DNA*	x µl

* 不同模板最佳反应浓度不同，下表为50 µl反应体系推荐模板使用量：

动植物基因组DNA	0.1 - 1 µg
大肠杆菌基因组DNA	10 - 100 ng
cDNA	1 - 5 µl (不超过PCR反应总体积的1/10)
质粒DNA	0.1 - 10 ng
λDNA	0.5 - 10 ng

反应程序

95°C	3 min (预变性) ^a	} 30 - 35 cycles
95°C	15 sec	
60°C ^b	15 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	5 min (彻底延伸)	

a 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，可根据模板结构复杂程度调整。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至5 - 10 min以提高预变性效果。

b 退火温度需要根据引物的T_m值进行调整，一般设置成低于引物T_m值3 ~ 5°C即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

常见问题与解决方案

	无产物或产物量少	有杂带或弥散条带
引物	优化引物设计	优化引物设计
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度	尝试提高退火温度，可间隔2°C设置温度至65°C
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为0.2 µM
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至35 - 40个循环	减少循环数至25 - 30个循环
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板使用量	粗提样品可能需要减少使用量；其他样品使用量参照反应体系推荐量并适量增加	使用量参照反应体系推荐量调整

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。