

2 × Rapid Taq Master Mix

P222

Version 21.1



产品概述

本产品包含Taq DNA Polymerase、延伸促进因子、dNTP以及优化的缓冲体系，扩增速度可达15 sec/kb，适用于快速PCR反应，1 kb以内的极限扩增速度可达1 sec/kb，大幅节省PCR反应时间。预先配制的2 × Master Mix用于PCR反应时只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重现性。本品扩增性能优，保存稳定性高，适用于5 kb以内以基因组为模板的PCR扩增以及10 kb以内以质粒和λDNA为模板的PCR扩增。扩增体系中加入的保护剂使得2 × Master Mix反复冻融后仍可保持稳定活性。本品含有电泳缓冲液和绿色染料，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，可直接克隆至T载体，并适用于ClonExpress和拓扑克隆试剂盒 (Vazyme #C112/C113/C115/C601)。

产品组分

组 分	P222-01	P222-02	P222-03	P222-04
2 × Rapid Taq Master Mix	5 × 1 ml	15 × 1 ml	50 × 1 ml	10 × 5 ml

保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输，解冻后4°C可存放3个月。

适用范围

快速PCR法扩增DNA。

注意事项

琼脂糖凝胶电泳：1%琼脂糖凝胶电泳时，蓝色染料和黄色染料分别在4 kb和50 bp位置附近。

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Tm值相差不超过1°C为佳，Tm值调整至55 ~ 65°C为佳(引物Tm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Tm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. 避开引物内部或者两条引物之间有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 50.0 µl
2 × Rapid Taq Master Mix	25.0 µl
Primer 1 (10 µM)	2.0 µl
Primer 2 (10 µM)	2.0 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	15 sec/kb ^c	
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修改。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，一般设置为低于引物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；

c. 如需获得更高产量，对于产物在1 kb以内的PCR反应，延伸时间可设置为2 - 5 sec；产物在1 kb以上的PCR反应，可延长延伸时间至20 - 30 sec/kb。

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	适当增加延伸时间至30 sec/kb	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。