

2X *Exp Taq* 预混液 Ver.2 (含染料)

2X *Exp Taq* Master Mix Ver.2 (dye plus)
Code No. AG11409
包装量: 500 μ l X 6 pc
(120 rxns / 50 μ l)

保存温度: -20 °C

➤ 产品概述

本制品为即用型 *Exp Taq* Enzyme PCR 反应2倍浓度的预混液, 包含 *Exp Taq* DNA Polymerase、dNTPs 以及优化的 Buffer 体系; 进行 PCR 反应时, 只需向预混液中加入模板、引物和水即可进行扩增。同时本制品中加入了电泳时所需的色素试剂 (蓝色和黄色色素), 反应液呈现鲜艳的绿色, PCR 结束后可直接进行琼脂糖凝胶电泳。这种预混液方案操作简便, 可最大限度的减少人为误差, 减少多步操作可能带来的污染, 在较短时间内即可获得检测结果。

本制品是应用 LA PCR 原理, 精心优化得到的 PCR 反应体系, 在本公司性能优越的 *Accurate Taq* enzyme 中添加了高保真酶, 使其具有部分 3' -5' Exonuclease 活性 (Proof reading 活性), 非常适合长片段 DNA 的 PCR 扩增, 且具有较好的保真性。PCR 产物的 3' 端带有一个 A 碱基, 可直接克隆于 T 载体。

➤ 保存

保存温度: -20°C

运输温度: 干冰或者 -20°C 冰袋运输

➤ 产品组成

 2X *Exp Taq* Master Mix Ver.2 (dye plus) 500 μ l x 6 pc

RNase free water 1 ml x 3 pc

➤ 实验操作

 反应体系^{*4} (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X <i>Exp Taq</i> Master Mix Ver.2 (dye plus) ^{*1}	1X	25 μ l
Template	≤ 500 ng ^{*2}	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M ^{*3}	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l

*1: 2X *Exp Taq* Master Mix Ver.2 (dye plus) 使用时, 先离心然后后使用, 避免酶量损失。

*2: 模板用量一般 ≤ 500 ng; 可根据实际需要调整模板用量。

*3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μ M; 也可根据实际需要再在 0.2 ~ 1.0 μ M 范围内调整。

*4: 反应体系建议在冰上配制, 最后将配制好的反应液放置于 PCR 仪中反应。

反应条件（以三步法扩增1 kb DNA片段为例⁹⁾

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ⁵⁾	1
变性	98°C	10 sec ⁶⁾	} 25~35
退火	55°C	30 sec ⁷⁾	
延伸	72°C	1 min / kb ⁸⁾	
最终延伸	72°C	2 min	1

*5: 一般建议将预变性设置94°C 30 sec~1 min; 对于复杂模板, 如高 GC 或者长片段, 可尝试延长预变性时间。

*6: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般98°C 5~20 sec 或94°C 30 sec。

*7: 退火温度主要取决于上下游引物的 T_m 值, 通常可按照 T_m ± 5°C 设定。

*8: 延伸温度一般设定为72°C, 延伸速度1 min / kb, 同时, 可在 30 sec / kb ~1 min / kb 范围内进行调整。

*9: 当引物 T_m 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好时, 可尝试两步法 PCR 扩增 (两步法 PCR 反应程序可参考附录)。

结果检测

反应结束后, 取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

附录：两步法 PCR 程序
反应条件（以两步法扩增1 kb DNA片段为例）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min	1
变性	98°C	10 sec	} 25~35
延伸	68°C	1 min / kb	
最终延伸	72°C	2 min	1

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.