

Taq-Plus PCR Master Mix (2×)

REF: AZ00001-5×1

储运条件

-20°C保存

产品组成

组分	规格
Taq-Plus PCR Master Mix (2×)	5×1 ml

产品简介

Taq-Plus PCR Master Mix (2×) 的浓度为 2×，使用方便快捷，能减少 PCR 操作过程中的污染，使用时只需取适量 Taq-Plus PCR Master Mix (2×)，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 A 碱基，纯化后可直接用于 T/A 克隆。

质量控制

核酸内切酶检测

37°C 下，将 20 μl Taq-Plus PCR Master Mix (1×) 与 1 μg 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h 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。

非特异性核酸酶检测

37°C 下，将 20 μl Taq-Plus PCR Master Mix (1×) 与 15 ng 双链 DNA 片段共同孵育 16 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测无可见降解。

功能检测

以人基因组 DNA 为模板，扩增 5k 和 3k 两个片段，30 个循环后经琼脂糖凝胶电泳检测，可见明显目标条带。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
Taq-Plus PCR Master Mix (2×)	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
模板 DNA ^b	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°C	3~5 min
变性	94°C	30 sec
退火	55~65°C	30 sec
延伸 ^b	72°C	30~60 s/kb
终延伸	72°C	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，预变性时间可适当延长至 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：

如果使用酵母菌液作为 PCR 扩增模板，建议目的片段长度不超过 2.5 kb，若超出 2.5 kb，建议将酵母菌液预先进行破壁处理。