

PCR Mix

产品组分

P2011

2×PCR Mix	1ml	1支
超纯水	1ml	1支

P2012

2×PCR Mix	1ml	1支×5
超纯水	1ml	1支×5

- P2011可进行40次反应（50 μl标准PCR反应体系，每次使用25μl）；
- P2012可进行200次反应（50 μl标准PCR反应体系，每次使用25μl）。
- 本产品分含体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品，PCR扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如没特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

2×PCR Mix的组分

100 mM KCl
20 mM Tris-HCl
3 mM MgCl₂
400 μM dNTP混合物
0.1 U/μl Taq DNA聚合酶
溴酚蓝
其他增强剂与稳定剂

应用举例

反应体系

λ DNA (2.5 ng/μl)	1 μl
引物1 (10 μM)	2 μl
引物2 (10 μM)	2 μl
2XPCR Mix	25 μl
超纯水	补足至50 μl

如果PCR出现非特异性带或背景高，可以减少PCR Mix用量。

特异性反应体系

λ DNA (2.5 ng/μl)	1 μl
引物1 (10 μM)	2 μl
引物2 (10 μM)	2 μl
2XPCR Mix	20 μl
超纯水	补足至50 μl

反应条件

94℃	3 min	} 30 Cycles
94℃	30 sec	
55-68℃	30 sec	
72℃	1-2 min	
72℃	10 min	

产品说明

PCR Mix是2×浓缩的PCR扩增预混和溶液，含有Taq DNA聚合酶、dNTP混合物、缓冲液等PCR扩增必需组分（模板与引物除外）。使用时，仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行PCR，大大简化操作过程，缩短操作时间，降低污染（加样次数减少）同时，由于体系内含有增强剂，能够显著增强PCR扩增的灵敏度。扩增产物具有3'-dA突出端。

Taq DNA聚合酶是嗜热性细菌*Thermus aquaticus*来源的热稳定重组型Taq DNA聚合酶，分子量为94 KD。扩增片段的长度可达5 kb（简单模板）。延伸速度为0.9-1.2 kb/min（70-75℃）。该酶具有5'→3'聚合酶活性，无3'→5'外切酶活性。

活性定义

一个活性单位（U）指用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，在72℃、30 min内，摄入10 nmol全核苷酸所需的酶量。

质量控制

相关测试表明无外源内切酶或外切脱氧核糖核酸酶、核糖核酸酶污染；PCR方法检测无宿主残余DNA，能有效扩增人基因组中的单拷贝基因；室温放置一周，扩增活性无明显改变。

保存条件

-20℃保存2年。

请勿-70℃保存，防止反复冻融导致酶活降低。

注意事项

- 1 Taq DNA聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在PCR产物3'末端通常会加上1个多余的脱氧腺嘌呤核苷。
- 2 建议在冰上配置PCR反应液后，再放入PCR仪中进行扩增。这有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增，得到良好的PCR结果。
- 3 模板DNA推荐用量（50 μl PCR反应体系）

人类基因组DNA	0.1-1 μg
λDNA	0.5 ng-5 ng
质粒DNA	0.1 ng-10 ng
大肠杆菌DNA	10 ng-100 ng

Q&A

PCR Mix的反应体系与普通Taq DNA聚合酶的反应体系有何不同？

答：PCR Mix的反应体系中除Taq DNA聚合酶、dNTP混合物、Mg²⁺等常规组分外，还包含适当比例的PCR Enhancer与稳定剂。而且，反应体系中的离子种类与浓度也有所区别。

为什么PCR Mix的灵敏度与扩增效率会高于普通Taq DNA聚合酶？

答：这是由于东盛对PCR Mix反应缓冲液中的成分与浓度进行了优化。我们在PCR Mix反应缓冲液中添加了适当比例的PCR Enhancer，提高了聚合酶的热稳定性，显著降低DNA二级结构对于PCR扩增的影响。同时，对PCR Mix反应缓冲液中的离子浓度与比例进行优化，使得聚合酶处于最适活性状态，从而获得了最佳的扩增效率。