

2 × AceTaq® Master Mix

P411/P412



Version 5.1

Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

本产品包含AceTaq® DNA Polymerase, dNTP以及优化的缓冲体系, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 减少了移液操作, 提高了通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得Master Mix经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品提供含有电泳缓冲液和染料的版本, 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, 可克隆至T载体, 并适用于ClonExpress®快速克隆试剂盒 (C112/C113)。

产品组成

组分	P411-01 1 ml	P411-02 5 ml	P411-03 15 ml
2 × AceTaq® Master Mix	1 ml	5 ml	15 ml

组分	P412-01 1 ml	P412-02 5 ml	P412-03 15 ml
2 × AceTaq® Master Mix (Dye Plus)	1 ml	5 ml	15 ml

储存条件

-20°C保存。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物, 74°C 30分钟内, 摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测: 20 µl本品和0.6 µg λ-Hind III在37°C下孵育16小时, DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 20 µl本品和0.6 µg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4小时, DNA的电泳谱带不发生变化。

功能检测: 以30 pg人基因组DNA为模板, 扩增α-1-antitrypsin gene。35个循环后将1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳, EB染色, 可见有单一的360 bp条带。

应用实例

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	to 50 µl
2 × AceTaq® Master Mix	25 µl
模板DNA*	optional
引物1 (10 µM)	2 µl
引物2 (10 µM)	2 µl

* 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 µl反应体系推荐模板使用量：

人基因组DNA	1~500 ng
大肠杆菌基因组DNA	1~100 ng
λ DNA	0.1~1 ng
质粒DNA	0.1~1 ng

2. PCR反应条件设置

95°C	5 min ^a (预变性)	
95°C	30 sec	} 30-35 cycles
55°C ^b	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min (彻底延伸)	

a. 预变性时间至少需要5 min。如扩增不理想，可适当延长95°C预变性时间，最长可至10 min。

b. 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度1-2°C即可。

引物设计注意事项

1. 引物3'端最后一个碱基选择C或G；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端尽量避免出现发夹结构；
4. 引物T_m值控制在55°C-65°C之间；
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GC含量控制在40%-60%之间；
7. 正向引物和反向引物T_m值以及GC含量尽可能一致。