

# 2 × Taq Master Mix for PAGE

P113/P114

Version 5.1



Vazyme biotech co., ltd.

## 产品简介

本产品包含Taq 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)。本产品经过特殊优化, PCR产物适合于聚丙烯酰胺凝胶电泳及琼脂糖电泳。

## 产品组成

组 分	P113-01 5 ml	P113-02 15 ml	P113-03 50 ml
2 × Taq Master Mix for PAGE	5 ml	15 ml	50 ml

  

组 分	P114-01 5 ml	P114-02 15 ml	P114-03 50 ml
2 × Taq Master Mix for PAGE (Dye plus)	5 ml	15 ml	50 ml

## 储存条件

-20°C保存。

## 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1: 50 μl体系中, 以100 ng人基因组DNA为模板扩增α-1-antitrypsin gene。30个循环后取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。

功能检测2: 50 μl体系中, 以水稻基因组DNA为模板扩增SSR标记RM8071。30个循环后取2 μl PCR产物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染, 可见特异性144 bp的条带。

## 应用实例

### 1. 反应体系配制

ddH <sub>2</sub> O	to 50 $\mu$ l
2 × Taq Master Mix for PAGE	25 $\mu$ l
模板DNA*	optional
引物1 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
引物2 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l

\* 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50  $\mu$ l反应体系推荐模板使用量：

人基因组DNA	0.1~1 $\mu$ g
大肠杆菌基因组DNA	10~100 ng
$\lambda$ DNA	0.5~5 ng
质粒DNA	0.1~10 ng

### 2. PCR反应条件设置

94°C	5 min (预变性)	
94°C	30 sec	} 30-35 cycles
55°C*	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min (彻底延伸)	

\* 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。

## 操作注意事项

由于Taq DNA Polymerase在室温下也有一定的反应活性，PCR反应体系请在冰上进行配制，之后再置于PCR仪上进行反应。这样可以减少在反应准备阶段发生的非特异扩增，有助于得到高特异性的扩增结果。

## 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<sub>m</sub>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<sub>m</sub>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<sub>m</sub>值以及GC含量尽可能一致。