

产品简介

本产品是一款包含 Taq DNA Polymerase、dNTP 以及优化缓冲体系的 2 × PCR Mix，只需加入引物和模板即可进行反应，减少了移液操作引起的误差，同时提高了通量和结果的重现性。经过优化的缓冲体系能够有效抑制非特异性扩增和引物二聚体的产生。体系中加入的保护剂使得 Mix 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品中含有绿色染料，可在反应结束后直接进行电泳。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 / C114）。

产品组成

组 分	P131-01	P131-02	P131-03
Green Taq Mix	5 ml	15 ml	50 ml

组 分	P131-w1	P131-w2	P131-w3
Green Taq Mix	5 ml	15 ml	50 ml
ddH ₂ O	5 ml	15 ml	50 ml

储存条件

-20°C 保存（4°C 可存放 2 个月）。

使用范围

常规 PCR 扩增
 菌落 PCR 鉴定
 RT-PCR 检测
 基因型鉴定
 高 AT 片段扩增

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. 以 10 ng 人基因组 DNA 为模板，可以很好扩增 2.6 kb 的目的片段；

2. 以 10 ng 小麦基因组 DNA 为模板，可以很好扩增 4 kb 的目的片段；

3. 以 10 ng 烟草基因组 DNA 为模板，可以很好扩增 1.3 kb 的目的片段（AT 含量为 72%）；

4. 以 50 ng HeLa 细胞总 RNA 对应的 cDNA 为模板，可以很好扩增 4.8 kb 的目的片段。

应用实例

1. 反应体系配制

ddH ₂ O	to 50 μl
Green Taq 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	10~200 ng
大肠杆菌基因组 DNA	10~100 ng
λ 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)	} 30-35 cycles
94°C	30 sec	
58°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。

电泳注意事项

1% 琼脂糖凝胶电泳时，蓝色色素在 4 kb 附近，黄色色素在 50 bp 以下位置。

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 Tm 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 Tm 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 Tm 值以及 GC 含量尽可能一致。