

2 × Taq Plus Master Mix II (Dye Plus)

P213-01/02/03

Version 7.1



Vazyme biotech co., ltd.

产品概述

本产品包含Taq Plus DNA Polymerase、dNTP以及优化的缓冲体系，适用于高产量PCR反应。相比于普通PCR，具有更高的保真度、更强的扩增性能和产量，可用于10 kb以内以基因组为模板的PCR扩增以及15 kb以内以质粒和λDNA为模板的PCR扩增。预先配制的2 × Taq Plus Master Mix II用于PCR反应时只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重现性。扩增体系中加入的保护剂使得2 × Taq Plus Master Mix II反复冻融后仍可保持稳定的活性。本品含有蓝色双染料，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，可直接克隆至T载体，并适用于ClonExpress®快速克隆试剂盒(C112/C113/C114)。

产品组分

组 分	P213-01	P213-02	P213-03
2 × Taq Plus Master Mix II (Dye Plus)	5 × 1 ml	15 × 1 ml	50 × 1 ml

保存条件

-20℃保存。

质量控制

核酸外切酶残留检测：20 μl本品与50 pmol单链DNA底物和双链DNA底物在37℃下孵育16 h，经变性PAGE电泳，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0.3 μg pBR322 DNA在37℃下孵育4 h，经琼脂糖凝胶电泳，质粒的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌DNA残留检测：20 μl本品中残留的核酸经*E. coli* gDNA特异性的TaqMan qPCR检测，*E. coli*基因组残留低于10拷贝。

功能检测：50 μl PCR体系中，分别以100 ng小鼠基因组DNA、100 ng小麦基因组DNA、10 ng λDNA、1 μl HeLa细胞cDNA为模板。扩增长度为0.5 kb-10 kb的5个不同目的片段。35个循环后取1/10 PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳，EB染色，可见有单一的相应条带。

实验流程**反应体系**

ddH ₂ O	To 50 μl
2 × Taq Plus Master Mix II (Dye Plus)	25 μl
Primer1(10 μM)	2 μl
Primer2(10 μM)	2 μl
Template DNA*	x μl

* 不同模板最佳反应浓度不同，下表为50 μl反应体系推荐模板使用量：

动植物基因组DNA	0.1-1 μg
大肠杆菌基因组DNA	10-100 ng
cDNA	1-5 μl (不超过PCR反应总体积的1/10)
质粒DNA	0.1-10 ng
λDNA	0.5-10 ng

反应程序

95°C	3 min(预变性) ^a	} 30-35 cycles
95°C	15 sec	
60°C ^b	20 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	5-10 min(彻底延伸)	

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，可根据模板结构复杂程度调整。如模板结构复杂，可将预变性时间延长至5-10 min以提高预变性效果；

b. 退火温度需要根据引物的Tm值进行调整，一般设置成低于引物Tm值3-5°C即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

注意事项

引物设计

1. 引物3'端最后一个碱基最好为G或者C；
2. 引物3'端最后8个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物3'端应避免出现发夹结构；
4. 正向引物和反向引物的Tm值相差不超过1°C为佳，Tm值调整至55°C-65°C为佳(引物Tm值推荐使用Primer Premier 5进行计算)；
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. 引物的GC含量控制在40%-60%之间；
7. 引物A、G、C、T整体分布要尽量均匀，避免使用GC或者AT含量高的区域；
8. 引物内部或者两条引物之间避免有5个碱基以上的互补序列，两条引物的3'端避免有3个碱基以上的互补序列；
9. 引物设计完毕请使用NCBI BLAST功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

常见问题及解决方案

	无产物或产物量少	有杂带或弥散条带
引物	优化引物设计	优化引物设计
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度	尝试提高退火温度，可间隔2°C设置温度至65°C
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为0.2 μM
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至35-40个循环	减少循环数至25-30个循环
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板使用量	粗提样品可能需要减少使用量；其他样品 使用量参照反应体系推荐量并适量增加	使用量参照反应体系推荐量调整



企业已通过 ISO 9001:2015
国际质量管理体系认证