

2× Specific™ Taq Master Mix

SinoBio目录号: E010

novoprotein

近岸蛋白质科技有限公司



地址: 上海市浦东新区张江高科技园区蔡伦路720号2号楼

电话: 021-50798060

邮箱: product@novoprotein.com

产品描述:

本制品是由Taq DNA聚合酶、dNTP混合物、MgCl₂以及反应缓冲液预先配制成2倍浓度的混合物,是E005 2×Taq Master Mix同一系列产品,其配方专门针对复杂模板扩增条件进行优化,具有更好的稳定性,更好的扩增特异性,可减少非特异性条带的扩增,能提高复杂模板及高GC含量模板的扩增效果。使用时,只需在加入模板和引物并稀释到1倍浓度即可进行PCR反应,大大地简化了操作过程,减少了PCR操作过程中的污染。2× Specific™ Taq Master Mix提供普通型/快速上样型(含蓝色染料)两种形式供您选择。经测试,高纯度染料的加入不影响PCR反应,在PCR反应完成后可直接电泳,节省时间。

特点:

高效:以DNA为模板,扩增长度可达8kb,能高效扩增4kb以下片段。

稳定:反复冻融五十次,4℃放置30天,室温放置一周后,扩增性能不受影响。

快捷:PCR反应所必需试剂全集于一管之中,数分钟即可完成反应体系配制。

便利:10μl, 25μl 或50μl体系全部适用。PCR反应后可直接电泳(含染料形式)。

产品用途:

- 1) 适用于常规PCR鉴定及较短DNA片段的PCR克隆;
- 2) 复杂模板扩增,高GC含量模板扩增;
- 3) 平端PCR产物加A。

使用建议:

使用本制品扩增得到的PCR产物具有3'端"A"突出,可直接克隆于T-Vector中;

PCR的反应液请在冰中配制,然后置于PCR反应仪上进行PCR反应;

如需较高灵敏度的PCR反应可选择2× Taq Master Mix(目录号: E005)。

如实验室长期需要对同一片段进行扩增,建议采用防污染PCR扩增检测2×Master Mix(目录号: E061),以避免PCR产物气溶胶污染。

保存温度: -20℃

产品包装(A包装):

2× Specific™ Taq Master Mix 1ml×3支

反应体系(50μl):

SinoBio 2×Master Mix*	25μl
上游引物	0.2-1.0μM(终浓度)
下游引物	0.2-1.0μM(终浓度)
模板	1-50ng(质粒) 10ng-1μg(基因组)
ddH ₂ O	至50μl

*Mg²⁺终浓度为2mM
推荐使用反应体系: 20~50μl

常用PCR循环:

当扩增片段<3K时

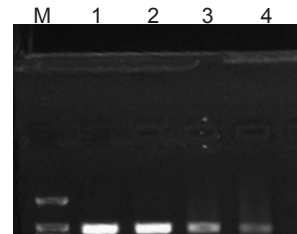
94℃	1分钟30秒
30次循环:	{ 94℃, 30秒, 57℃, 30秒, 72℃, 60秒/1kb
72℃	5分钟
4℃	保温

当扩增片段≥3K(推荐引物长度≥30bp)时

94℃	20秒
30次循环:	{ 94℃, 5秒, 68℃, 60秒/1kb
72℃	5分钟
4℃	保温

应用实例:

使用2× Specific™ Taq Master Mix试剂以人基因组为模板对基因进行扩增的结果



在50μl扩增体系中,分别以人基因组DNA为模板,对特定基因片段(1kb)进行扩增。

DNA模板量:

泳道1, 2: 2× Specific™ Taq Master Mix

泳道3, 4: A公司的Taq预混液;

泳道M: DL2000 DNA Marker

使用2× Specific™ Taq Master Mix经过普通PCR后就可以得到最理想的扩增效果, A公司的Taq预混液则对这组特殊引物扩增很不理想,不仅产物浓度低,并且伴随着严重的非特异。

仅供科研使用,不能应用于人体

技术咨询电话: 400-600-0940

www.sinobio.net

方案一

1. 配置20 μ l PCR反应体系 (见下表)。
2. 用无菌牙签或10 μ l小枪头挑取单个菌落
3. 接种至另一相应抗生素平板上, 在编号的方格内保种。
4. 将此牙签或小枪头在PCR反应液中轻轻搅动几次。

(您也可以挑取单菌落后先在PCR反应液中轻轻搅动两、三次, 其后将牙签或小枪头置于装有3ml含相应抗生素培养基的试管中摇菌后保种。)

5. 进行PCR反应 (见下表), 预变性采用95 $^{\circ}$ C 2~5分钟以充分裂解细菌释放模板DNA。
6. 取5~10 μ l PCR产物跑胶检测, 以确定阳性克隆。

方案二

1. 取若干个1.5ml无菌EP管, 加入相应抗性的培养基0.5ml。
2. 用无菌牙签或10 μ l小枪头挑取单个菌落置于1.5毫升EP管进行摇菌培养。
3. 培养若干小时后, 待菌液略微出现浑浊后, 即可直接吸取菌液进行菌液PCR鉴定。
4. 配置20 μ l PCR反应体系 (见下表), 每个反应体系中加入微量 (~0.2 μ l) 菌液作为模板。
5. 进行PCR反应 (见下表), 预变性采用95 $^{\circ}$ C 2~5分钟以充分裂解细菌释放模板DNA。
6. 取5~10 μ l PCR产物跑胶检测, 以确定阳性克隆。

BenchTop™ 系列试剂室温保存, 帮你省去到冰箱找试剂的麻烦, 让您的每次PCR实验更轻松一些。

2×BenchTop™ Taq Master Mix或 2×Taq Master Mix 体系配置:	普通PCR试剂体系配置:	PCR扩增循环:
2× Taq Master Mix 10 μ l	5× Taq反应缓冲液 4 μ l	95 $^{\circ}$ C, 2~5分钟
上游引物 (浓度 10 μ M) 1 μ l	dNTP (10mM) 0.5 μ l	94 $^{\circ}$ C, 30秒
下游引物 (浓度 10 μ M) 1 μ l	上游引物(浓度 10 μ M) 1 μ l	55 $^{\circ}$ C, 30秒
ddH ₂ O 8 μ l	下游引物(浓度 10 μ M) 1 μ l	72 $^{\circ}$ C, 1kb/分钟
少量菌落或菌液做模板	Taq酶 0.2 μ l	10 $^{\circ}$ C, 保温
	ddH ₂ O 13.5 μ l	} 25~30次循环
	少量菌落或菌液做模板	

若配合使用 Fast Taq系列Master Mix将大幅缩短了PCR鉴定所需的时间, 并简化了实验操作步骤。

2×BenchTop™ Fast Taq Master Mix或 2×Fast Taq Master Mix体系配置	PCR扩增循环:
2× Fast Taq Master Mix 10 μ l	95 $^{\circ}$ C, 2~5分钟
上游引物 (浓度 10 μ M) 1 μ l	94 $^{\circ}$ C, 30秒
下游引物 (浓度 10 μ M) 1 μ l	55 $^{\circ}$ C, 30秒
ddH ₂ O 8 μ l	72 $^{\circ}$ C, 1kb/15秒
少量菌落或菌液做模板	10 $^{\circ}$ C, 保温
	} 25~30次循环