



1×Taq MasterMix(purple)

试剂组成:

组成	MT261-01	MT261-02	MT261-03
1×Taq MasterMix (purple)	1ml	5ml	100ml

产品介绍:

1×Taq 预混液中包含Taq DNA 聚合酶, dNTPs, 染料及PCR 反应所需的缓冲液, 是一种即用型PCR 扩增试剂。使用时, 只需加入引物和DNA 模板即可进行PCR 扩增, 引物和模板的加入总体积可以在 1-10μl 间变动, 具有很强的可调性。该PCR 预混液能节省实验时间, 避免了常规 PCR 试剂多次加样造成的实验污染。预混液本身含有染料, 扩增完成后可直接上样, 进行电泳检测。

保存条件: -20℃保存, 有效期一年。

产品用途:

常规PCR 扩增, 菌落PCR, TA 克隆用的PCR 片段扩增, RT-PCR。

PCR 扩增体系:

1. 单个样本扩增时, 按右表中所列顺序添加其它成分。充分混匀后, 离心数秒使反应混合物沉到管底, 将反应管置于 PCR 仪中进行扩增。

2. 多个样本扩增时, 可以在一个离心管中混合引物和 1×TaqMasterMix, 然后按比例分装。例如需要 10 个 50μl 体系的 PCR 扩增, 每个样本的模板量需加 5μl, 按左表中所列的量混合引物和 1×TaqMasterMix, 然后分 45μl 到每个 PCR 管中, 最后一一对应加 5μl 待扩增的模板 DNA。离心数秒使反应混合物沉到管底, 将反应管置于 PCR 仪中进行扩增。

组成成分	25 μl 体系	50 μl 体系
上游引物 (10 μM)	0.5μl	1μl
下游引物 (10 μM)	0.5μl	1μl
模板 DNA	1-4μl	1-8μl
1×Taq MasterMix	补体积到 25μl	补体积到 50μl

组成成分	50 μl 体系	×10
上游引物 (10 μM)	1μl	10μl
下游引物 (10 μM)	1μl	10μl
1×Taq MasterMix	43μl	430μl
模板 DNA	5μl	50μl

PCR 循环设置:

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性*	94℃	2-5 分钟	1 次
变性	94℃	10 秒种	25-40 次
退火**	50-72℃	10 秒种	
延伸	72℃	1-2kb/分钟	
后延伸***	72℃	2-15 分钟	1 次

*菌落PCR 时, 94℃预变性5 分钟, 用于裂解细胞, 失活核酸酶

**退火温度则需按其引物的Tm 值来进行调整, 一般为Tm-5

*PCR 扩增产物用于TA 克隆时, 72℃延伸15 分钟为好

扩增模板: 低复杂基因组模板 (质粒、病毒、λ和BAC DNA 等), 50 μl 体系中添加10-100 ng; 高复杂基因组模板, 50 μl 反应体系中, 模板的使用量应在 100-500 ng; cDNA 模板的添加量不要超过PCR 反应体系的1/10, 50 μl PCR 反应体系中RT 产物的加入量为2-3μl, 不要超过5 μl。

结果检测: PCR 反应结束后, 5-10 μl 扩增产物用含0.5 μg/ml 溴化乙锭 (或合适浓度的其它 DNA 染色试剂), 合适浓度的琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳完成后在紫外透射仪下观察并记录结果。