

PCR Master Mix (2x, Dye)



简介

PCR Master Mix (2x, Dye) 是使用 Taq DNA Polymerase 配制的 PCR 反应预混液，已包含 Taq 酶、缓冲液、dNTP 等组分，方便快捷，能减少 PCR 操作过程中的污染。使用时只需取适量 PCR Master Mix (2x, Dye)，加入 DNA 模板和引物，并加入 ddH₂O 补足体积，使反应体系浓度为 1×即可进行 PCR 反应。该 Mix 最长可扩增 5Kbp DNA 片段，具有良好的扩增特异性和模板兼容性，PCR 产物 3'端带突出 A 碱基，纯化后可直接用于 T/A 克隆。本产品含绿色染料，PCR 反应产物可直接进行电泳，无需添加 loading buffer。

产品组成

产品编号	MD70100
反应次数 (20μl)	10 × 100 次
PCR Master Mix (2x, Dye)	10 × 1ml

保存条件

PCR Master Mix (2x, Dye) 冰盒运输，收到产品后请尽快保存 -20℃，有效期 18 个月。

质量控制

● 核酸内切酶活性检测

将 25μl PCR Master Mix (2x, Dye) 与 200ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50μl 反应体系，在 37℃ 下，温育 4 小时后，用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

● 非特异性核酸酶活性检测

将 25μl PCR Master Mix (2x, Dye) 与 15ng 双链 DNA 片段配制成 50μl 反应体系，在 37℃ 下温育 16 小时，用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

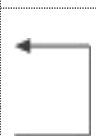
使用方法

1. 常规 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
PCR Master Mix (2x, Dye)	25 μl	1×
正向引物 (10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物 (10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
模板 DNA ^b	X μl	
ddH ₂ O	To 50 μl	

- 引物推荐终浓度为 0.2~0.4 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整，引物浓度越低，扩增特异性越高，但扩增效率会有所下降。
- 不同模板最佳反应浓度有所不同，以 50 μl 体系为例：模板为基因组 DNA 时，一般推荐的使用量为 10~400 ng；当模板为质粒或病毒 DNA 时，一般推荐的使用量为 10 pg~20 ng。

2. 常规 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性 ^c	94℃	3-5min	
变性	94℃	30 s	
退火	55-65℃	30 s	
延伸 ^d	72℃	30-60s/Kbp	
终延伸	72℃	5min	

- 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，对于一些复杂模板，例如：菌液、菌落（尤其是酵母）的 PCR 扩增，预变性时间可适当延长至 10 min 以提高预裂解效果。
- 关于延伸速率，当目的片段长度不超过 2 kb 时，推荐使用 30s/kb；当目的片段长度大于 2kb 时，推荐使用 60 s/kb。
- 使用酵母菌液作为 PCR 扩增模板，建议目的片段长度不超过 2.5Kbp，若超出 2.5kb，建议将酵母菌液预先进行破壁处理。