



2×高性能Taq PCR预混液(含染料)说明书

货号：WGD-X-3100121

产品介绍

本产品包含高纯度特殊修饰的 Taq DNA Polymerase、dNTPs 以及优化的缓冲体系，只需加入引物、模板和 ddH₂O 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复性，可有效扩增 5 kb 以内的 DNA 片段。特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 提高了扩增反应的特异性，扩增体系中加入的保护剂使得 2×高性能 Taq PCR 预混液(含染料)反复冻融后仍可保持稳定活性。本产品含有蓝色染料，可在反应结束后直接进行电泳检测，方便快捷。

本产品 PCR 扩增产物 3'端带有一个突出的"A"碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

产品目录

产品名称	规格
2×高性能 Taq PCR 预混液(含染料)	1 mL×5

产品组成

组分	含量
2×高性能 Taq PCR 预混液(含染料)	1 mL×5

产品用途

- 高通量、高重复性常规 PCR 检测。
- 制备 TA 克隆用 PCR 产物。

产品特点

- 特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 提高了扩增反应的特异性；
- 加入的保护剂使得 2×高性能 Taq PCR 预混液(含染料)反复冻融后仍可保持稳定活性；
- 只需加入引物、模板和 ddH₂O 即可进行扩增，移液操作少，检测通量和结果的重复性高。

注意事项

由于 Taq DNA Polymerase 在室温下也有一定的反应活性，PCR 反应体系请在冰上进行配制，之后再置于 PCR 仪上进行反应。这样可以减少在反应准备阶段发生的非特异扩增，有助于得到高特异性的扩增结果。

本产品不可用于细菌 16S 鉴定。

操作步骤

- 反应体系

成分名称	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×高性能 Taq PCR 预混液(含染料)	12.5 μL	25 μL	1×
Primer F (10 μM)	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
Primer R (10 μM)	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
Template DNA	x μL	x μL	-
ddH ₂ O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	-



2. 以 50 μ L 体系为例，推荐使用的模板量如下表

模板类型	50 μ L 反应体系推荐用量
基因组 DNA	10 ~ 1000 ng
质粒 DNA	1 ~ 30 ng
λ DNA	0.5 ~ 10 ng
cDNA	1 ~ 2 μ L

注意：cDNA 模板若为原液，加入体积不宜超过 PCR 反应总体积的 1/10。以上为推荐的模板使用量，实际反应条件会存在一些差异，可根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例调整反应体系。

2. 反应程序

Stage	程序	温度	时间	循环数
Stage 1	预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min	1 cycle
Stage 2	变性	94 $^{\circ}$ C	25 s	30 ~ 35 cycles
	退火	55 ~ 64 $^{\circ}$ C	25 s	
	延伸	72 $^{\circ}$ C	10 ~ 15 s/kb	
Stage 3	彻底延伸	72 $^{\circ}$ C	1 ~ 5 min	1 cycle
Stage 4	-	4 $^{\circ}$ C	Hold	-

注意：如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将预变性时间延长至 5 ~ 10 min 以提高预变性效果；循环反应中的退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整，一般设置成低于引物 T_m 值 3 ~ 5 $^{\circ}$ 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。

■ 储存及运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}$ C 条件下储存，有效期 12 个月，干冰运输。

■ 常见问题及解决方法

	无产物或少量产物	有杂带或弥散条带
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板用量	粗提样品可能需要减少使用量；其他样品模板用量参照反应体系推荐量并适量增加	模板用量参照反应体系推荐量调整
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 ~ 45 个循环	减少循环数至 25 ~ 30 个循环
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 $^{\circ}$ C 设置至 64 $^{\circ}$ 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 μ M
引物设计	① 正向引物和反向引物的 T_m 值相差不超过 1°C 为佳，T_m 值调整至 55 ~ 65°C 为佳(引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物 T_m 值计算)； ② 引物 3' 端最后一个碱基最好为 G 或者 C；引物 3' 端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；引物 3' 端应避免出现发夹结构； ③ 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；引物的 GC 含量控制在 40% ~ 60% 之间； ④ 避开引物内部或者两条引物之间有 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；引物设计完毕建议使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。	