

2×PCR Master (含染料)

货号: BN20009

规格: 1ml/5*1ml/10*1ml

产品描述:

本制品是将 PCR 反应所需的 Taq 酶、dNTPs、MgCl₂ 以及反应缓冲液预先配制成 2 倍浓度的混合物。2×PCR Master 专为常规 PCR 扩增反应优化, 扩增长度可达 8kb, 能对 4kb 及其以下长度的片段进行高效地扩增。使用时只需再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。经测试, 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。

产品特点:

高效: 以 λ DNA 为模板, 扩增长度可达 8kb, 能高效扩增 ≤4kb 片段。

灵敏: 可从 0.05ng 人基因组 DNA 模板中扩增出特定基因片段。

稳定: 反复冻融几十次, 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: PCR 反应后可直接电泳 (含染料形式)。

产品用途:

- 1) 常规 PCR 鉴定;
- 2) 小片段目标基因克隆;
- 3) 平端 PCR 产物加 A。

使用建议:

使用本试剂扩增得到的 PCR 产物 3' 端有一突出 "A" 碱基, 可直接克隆于 T 载体中。

保存温度: -20℃

质量保证:

经检测无外源核酸酶残留, qPCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

常用反应体系 (50μl)

2×PCR Master	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

常用 PCR 循环

当扩增片段 < 3K:

94℃,	1 分钟 30 秒
30 次循环:	{ 94℃, 20 秒 50~60℃, 20 秒 72℃, 1kb/60 秒
72℃	5 分钟
4℃	保温

当扩增片段 ≥ 3K (推荐引物长度 ≥ 30bp):

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

注意事项:

- 1) 需要溶解完全后使用, 防止离子浓度不均匀。
- 2) 应根据实验目的选择合适的循环数, 循环数过少, 会造成扩增量不足; 循环数过多, 扩增量增加, 但突变率也会增加, 并造成特异性扩增。
- 3) 根据引物 T_m 值设置合适退火温度, 退火温度过低, 会造成非特性扩增, 过高可能扩增不到。