

产品说明书

产品名称: XK 2×Fast Taq PCR Master mix(with blue dye)

产品货号: XKL0214

产品组分

| 组分 | 规格 |
|---|----------|
| XK 2×Fast Taq PCR Master mix(with blue dye) | 5×1.0 mL |

储存条件

长期保存,请置于-20℃,有效期24个月。经常使用,可置于4℃保存至少六个月。

产品简介

本产品包含高纯度的 Fast Taq 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和优化剂以及稳定剂,浓度为 2×。适用于超快 PCR 反应(延伸速度可以达到 5-10 秒/kb,最短半小时完成 PCR)、复杂模板如 GC 含量高(>60%),有二级结构等的扩增和大规模基因检测。短片段或者简单模板如质粒模板可以尝试 5 秒/kb 延伸速度并采用较少循环数以进一步缩短 PCR 时间;长片段(≥3 kb)或者复杂模板产量较低时可以采用 15-20 秒/kb 延伸速度或者采用较多循环数。本产品使用方便快捷,能避免 PCR 操作过程中的污染,使用时只需取适量 XK 2×Fast Taq PCR Master Mix 溶液,加入模板和引物,并加入去离子水补足体积,使 Master Mix 溶液的浓度为 1×即可进行反应。产品已经加入染料(为蓝色),反应完成后,产物可直接电泳。蓝色染料可指示电泳进程,其迁移速度在 1% TAE 琼脂糖凝胶中与 500 bp 双链 DNA 片段相近。

适用范围

- 1)基因检测:本产品不同批次之间误差很小,特别适合大规模基因检测,半定量 PCR 实验和微量 DNA 的检测。
- 2) 超快 PCR 扩增:如表达基因的克隆、细胞内基因点突变的分析(SNP)等。
- 3) PCR 产物带 A 尾, 胶回收可与 TOPO-TA 载体(XKL0601 或者 XKL0606) 连接。

配制体系

| 组分 | 20 μL 体系 | 50 μL 体系 | 终浓度 |
|------------------------------|------------------|-------------|-------------|
| XK 2×Fast Taq PCR Master mix | 10 μL | 25 μL | 1× |
| 10 μM 上游引物 | 0.5 μL | 2 μL | 0.4 μΜ |
| 10 μM 下游引物 | 0.5 μL | $2~\mu L$ | $0.4~\mu M$ |
| 模版 DNA | 见标注* | 见标注* | |
| ddH ₂ O | Up to $20~\mu L$ | Up to 50 μL | |





*模板推荐量:基因组 DNA: 10~1000 ng; 质粒 DNA: 1~30 ng; cDNA: 1~2 μl。

(以上举例为常规 PCR 反应系统,仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异,需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件,并根据比例放大或缩小反应体系。)

推荐程序

| 步骤 | 温度 | 时间 | _ |
|-----|---------|----------------|--------------|
| 预变性 | 95°C | 2~3 min | |
| 变性 | 94°C | 10 s |) |
| 退火 | 55~64°C | 10~15 s | 30-36 cycles |
| 延伸 | 72°C | 5~10 s/1kb DNA | J |
| 终延伸 | 72°C | 1~5 min | |
| 保存 | 4°C | ∞ | |

常见问题与解决办法

Q1: 扩增无产物或产物量少?

A1:

- 1) 模板降解或模板纯度差。电泳检测模板质量,使用高质量模板;
- 2) 模板浓度过低。适当增加模板用量;
- 3) 引物不合适。优化引物设计;
- 4) 退火温度不合适。设置退火温度梯度,摸索合适的退火温度;
- 5) 循环数过少。适当增加 5~10 个循环;
- 6) 延伸时间不足。复杂模板可适当增加延伸速度至 20~30 s/kb。
- Q2: 扩增出现非特异条带或弥散带?

A2:

- 1) 引物特异性差。优化引物,避免非特异性条带以及引物二聚体的扩增;
- 2) 引物浓度过高。降低引物浓度;
- 3) 模板过量或纯度差。减少模板量,使用高质量模板;
- 4) 退火温度过低。适当提高退火温度或使用 Touchdown PCR 程序;
- 5) 循环数过多。减少循环数至 25~30 cycles。
- Q3: 扩增出现拖带抹带

A3:

- 1) 模板过量。参照说明书推荐模板量,以cDNA、质粒、PCR产物等简单模板的扩增,需要稀释模板;
- 2) 延伸时间过长。按照说明程序设置合适的延伸时间;
- 3) 循环次数过多。减少循环数;
- 4) 退火温度过低。提高退火温度。

