

Fast PCR Master Mix (2x, Dye)



简介

Fast PCR Master Mix (2x, Dye) 是使用 Taq DNA Polymerase 突变体 配制而成的快速 PCR 反应预混液, 包含快速 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。

该突变体能够高效扩增 ≤5kb 的 DNA 片段, 具有良好抑制剂耐受能力, 其扩增速度约为普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍, 因此可大幅度减少 PCR 延伸过程所需要的时间, 达到缩短时间的目的。不同于融合蛋白原理的快速 Taq 聚合酶, 该突变体更加接近野生型 Taq, 不易出现电泳条带弥散、拖带或者片段大小改变等状况。

使用时只需取适量 Fast PCR Master Mix (2x, Dye), 加入模板和引物, 并加入 ddH₂O 补足体积, 使反应体系浓度为 1x 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。本产品含红色染料, 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	MD70301
反应次数(20 μl)	10 × 100 次
Fast PCR Master Mix (2x, Dye)	10 × 1ml

保存条件

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

质量控制

● 核酸内切酶活性检测

将 25μl Fast PCR Master Mix (2x, Dye) 与 200ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50μl 反应体系, 在 37°C 下, 共同温育 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 Fast PCR Master Mix (2x, Dye) 与 15ng 双链 DNA 片段配制成 50μl 反应体系, 在 37°C 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 (冰上操作)


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

- 完全融解的再使用, 防止离子浓度不均匀。
- 引物推荐终浓度为 0.2~0.4μM, 效果不佳时可以在 0.1~1μM 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 50μl 体系为例: 模板为基因组 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10~400ng; 当模板为质粒或病毒 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10pg~20ng。

2. 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性 ^d	94°C	3-5min	
变性	94°C	30 s	
退火	55-65°C	30 s	
延伸	72°C	20-40s/Kbp	
终延伸	72°C	5min	

3. 二步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性 ^d	94°C	3-5min	
变性	94°C	30 s	
退火和延伸	68°C	20-40s/Kbp	
终延伸	72°C	5min	

d: 菌液 PCR 时预变性大于 5min 更有利于破壁。