

## 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 ddH<sub>2</sub>O 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) <sup>a</sup>	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物 (10 μM) <sup>a</sup>	1~2 μl	0.2~0.4 μM
模板 DNA <sup>b</sup>	X μl	
ddH <sub>2</sub> 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 <sup>c</sup>	94℃	3-5min	
变性	94℃	30 s	
退火	55-65℃	30 s	
延伸 <sup>d</sup>	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。