

产品说明书

产品名称: 2×Taq HiFi PCR mix (with blue dye)

产品货号: XKL0211

产品组分

组分	规格
2×Taq HiFi PCR mix (with blue dye)	5×1.0 mL

储存条件

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

产品简介

本产品包含高纯度 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂、优化剂以及稳定剂, 浓度为 2×。2×Taq HiFi PCR mix (with blue dye) 具有扩增效率高、错配率低, 具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好、扩增速度快 (10-15 秒 1kb) 等优点。可最大限度地减少人为误差, 可用于高特异性 PCR 反应及 GC 含量较高 (>60%) 具有二级结构等复杂模板的扩增和大规模基因检测。PCR 产物的 3' 端附有一个突出的 "A" 碱基, 纯化后可直接用于 TA 载体克隆。本产品有含蓝色染料, 在 PCR 反应完成后, 不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳; 也可经过纯化处理, 以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。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. 用于从复杂模板中如基因组等扩增 PCR 产物, 如表达基因的克隆、基因的定点突变和细胞内基因点突变的分析 (SNP) 等。

操作示例

按下表配制 PCR 反应体系 (冰上操作):

Template DNA*	<1 µg
2×Taq HiFi PCR mix (with blue dye)	10 µl
Primer 1 (10 µM)	0.5 µl
Primer 2 (10 µM)	0.5 µl
Nuclease-free ddH ₂ O 补足至	20 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。)

建议的 PCR 条件:

95 °C	3 min.
32-36 cycles of:	
94 °C	25 sec.
55-64 °C	25 sec.
72 °C	10-15sec /1 kb DNA
72 °C	5 min.
4 °C	forever

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。