

2×GS Taq PCR Mix

目录号

ST111

产品组成

组分	规格
2×GS Taq PCR Mix	5×1.0 mL

保存条件

-20℃保存 24 个月。

产品简介

本产品包含高纯度 GS Taq DNA 聚合酶、dNTPs 以及优化的缓冲体系，浓度为 2×，只需要添加引物、模板和 ddH₂O 即可进行 PCR 扩增，可有效扩增 3 kb 以内的 DNA 片段。体系中包含有蓝色电泳指示剂，可在扩增完成后直接上样进行电泳检测，其迁移速度在 1% TAE 琼脂糖凝胶中与 500 bp 双链 DNA 片段相近。

使用本产品扩增的 PCR 产物 3' 端带有一个突出的"A"碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

产品特点

- ◇ 操作简单：2×Mix，只需要添加引物、模板和 ddH₂O 即可进行 PCR 扩增；
- ◇ 极快的延伸速度：10~15 s/kb。

适用范围

适用于常规 PCR 扩增。

注意事项

1. 请使用高质量的模板进行扩增；
2. PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存。
3. 本产品不可用于细菌 16S 鉴定。

使用方法

操作示例

按下表配制 PCR 反应体系 (冰上操作)

组分	25 μ L 体系	50 μ L 体系	终浓度
2 \times GS Taq PCR Mix	12.5 μ L	25 μ L	1 \times
Primer 1 (10 μ M)	1.0 μ L	2.0 μ L	0.4 μ M
Primer 2 (10 μ M)	1.0 μ L	2.0 μ L	0.4 μ M
Template DNA*	As require	As require	
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	Up to 50 μ L	

*模板推荐量:

基因组 DNA: 10~1000 ng;

质粒 DNA: 1~30 ng;

cDNA: 1~2 μ L(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)。

(以上为推荐的模板使用量, 实际反应条件因模板、引物等的结构不同会存在一些差异, 可根据模板、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

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min	1
变性	94 $^{\circ}$ C	25 s	30~35 cycles
退火	55~64 $^{\circ}$ C	25 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	10~15 s/kb	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	1~5 min	1
-	4 $^{\circ}$ C	Hold	-

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。