



1×Fast Taq MasterMix(purple)

保存条件: -20℃保存, 有效期一年。

试剂组成:

组 成	MT302-01	MT302-02	MT302-03
1×Fast Taq MasterMix(purple)	1ml	1ml×5支	1ml×100支

产品介绍:

1×Fast Taq 预混液中包含 Fast Taq DNA 聚合酶, dNTPs, 染料及 PCR 反应所需的缓冲液, 是一种即用型 PCR 扩增试剂。使用时, 只需加入引物和 DNA 模板即可进行 PCR 扩增, 引物和模板的加入总体积可以在 1-10 μ l 间变动, 具有很强的可调性。该 PCR 预混液能节省实验时间, 避免了常规 PCR 试剂多次加样造成的实验污染。预混液本身含有染料, 扩增完成后可直接上样, 进行电泳检测。Fast Taq DNA 聚合酶扩增速度为 6kb/分钟。扩增 1kb 以下片段时, 延伸时间设置为 5 秒 / kb; 扩增 1kb 至 5kb 以下片段时, 延伸时间设置为 10 秒 / kb; 扩增 5kb 以上片段时, 延伸时间设置为 15 秒 / kb。如遇困难模板时, 延伸时间设置为 20 秒 / kb。

产品用途: 常规 PCR 扩增, 菌落 PCR, TA 克隆用的 PCR 片段扩增, RT-PCR。

PCR 扩增体系:

1. 单个样本扩增时, 按右表中所列顺序添加其它成分。充分混匀后, 离心数秒使反应混合物沉到管底, 将反应管置于PCR仪中进行扩增。

组成成分	25 μ l 体系	50 μ l 体系
上游引物 (10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l
下游引物 (10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l
模板DNA	1-4 μ l	1-8 μ l
1×Fast Taq MasterMix(purple)	补体积到25 μ l	补体积到50 μ l

2. 多个样本扩增时, 可以在一个离心管中混合引物和 1×Fast Taq MasterMix(purple), 然后按比例分装。例如需要做10个50 μ l 体系的PCR扩增, 每个样本的模板量需加5 μ l, 按左表中所示的量混合引物和1×Fast Taq MasterMix(purple), 然后分45 μ l 到每个PCR管中, 最后一一对应加入5 μ l 待扩增的模板DNA。离心数秒使反应混合物沉到管底, 将反应管置于PCR仪中进行扩增。

组成成分	50 μ l 体系	×10
上游引物 (10 μ M)	1 μ l	10 μ l
下游引物 (10 μ M)	1 μ l	10 μ l
1×Fast Taq MasterMix(purple)	43 μ l	430 μ l
模板DNA	5 μ l	50 μ l

PCR 循环设置:

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性*	94℃	2-5 分钟	1 次
变性	94℃	10 秒钟	25-40 次
退火**	50-72℃	10 秒钟	
延伸	72℃	6kb/分钟 (1kb 以下 5 秒 / kb)	
后延伸***	72℃	2-15 分钟	1 次

*: 菌落 PCR 时, 94℃ 预变性 5 分钟, 用于裂解细胞, 失活核酸酶

** : 退火温度则需按其引物的 T_m 值来进行调整, 一般为 T_m-5.

***: PCR 扩增产物用于 TA 克隆时, 72℃ 延伸 15 分钟为好

扩增模板:

低复杂基因组模板 (质粒、病毒、 λ 和 BAC DNA 等), 50 μ l 体系中添加 10-100ng; 高复杂基因组模板, 50 μ l 反应体系中, 模板的使用量应在 100-500ng; cDNA 模板的添加量不要超过 PCR 反应体系的 1/10, 50 μ l PCR 反应体系中 RT 产物的加入量为 2-3 μ l, 不要超过 5 μ l。

结果检测:

PCR 反应结束后, 5-10 μ l 扩增产物用含 0.5 μ g/ml 溴化乙锭 (或合适浓度的其它 DNA 染色试剂), 合适浓度的琼脂糖凝胶电泳检测, 电泳完成后在紫外透射仪下观察并记录结果。

BM.170929