

# 2 × Taq Mix for PAGE (Dye)

## P104-3

### 产品简介

本产品包含最新升级版的 Taq DNA Polymerase，比普通 Taq 酶具备更高的保真度。Mix 中混合有 dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了通量和结果的重现性。体系中加入的保护剂使得 Master Mix 经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。PCR 产物的 3'端带 A，可克隆至 T 载体，并适用于本公司 CloneUFO®快速克隆试剂盒。专用于聚丙烯酰胺凝胶检测。

### 产品组成

组 分	P104-3 (5 ml)	P104-3 (15 ml)	P104-3 (50 ml)
2 × Taq Mix for PAGE (Dye)	5 ml	15 ml	50 ml

### 储存条件

-20°C保存，于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

### 单位定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74°C 30 分钟内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

### 质量控制

核酸外切酶残留检测：20 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 74°C下孵育 1 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：20 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37°C温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测：20U 本品和 1 μg Hela 细胞总 RNA 在 37°C下孵育 30min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测：50 μl 体系中，以 ddH<sub>2</sub>O 为模板，扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1%琼脂糖凝胶电泳，染色，无扩增条带。

功能检测：以 10 ng λDNA 为模板扩增 30 个循环，1%琼脂糖凝胶电泳，染色，可见各自单一的目的条带。

## 实验方案

### 1. 反应体系配制

ddH <sub>2</sub> O	To 50 $\mu$ l
2 $\times$ Taq Mix for PAGE (Dye)	25 $\mu$ l
模板 DNA*	optional
引物 1(10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l
引物 2(10 $\mu$ M)	2 $\mu$ l

\*不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50  $\mu$ l 反应体系推荐模板使用量：

人基因组 DNA	0.1~1 $\mu$ g
大肠杆菌基因组 DNA	10~100 ng
$\lambda$ DNA	0.5~10 ng
质粒 DNA	0.1~10 ng

### 2. PCR 反应条件设置

94°C	5 min(预变性)	
94°C	30 sec	30-35 cycles
55°C*	30 sec	
72°C	60 sec/kb	
72°C	7 min(彻底延伸)	

\* 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于引物退火温度 1-2°C即可。

## 引物设计注意事项

1. 引物 3'端最后一个碱基选择 C 或 G；
2. 引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
3. 引物 3'端尽量避免出现发夹结构；
4. 引物 T<sub>m</sub> 值控制在 55°C-65°C 之间；
5. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物 T<sub>m</sub> 值计算；
6. 引物 GC 含量控制在 40%-60%之间；
7. 正向引物和反向引物 T<sub>m</sub> 值以及 GC 含量尽可能一致。