

Taq-AS PCR Mix(2×)/(5×) Taq-AS PCR Mix(+Dye)(2×)/(5×)

货号：004174

产品简介：

Taq-AS PCR Mix /Taq-AS PCR Mix(+Dye)的浓度为 2×/5×，使用方便快捷，能减少 PCR 操作过程中的污染，使用时只需取适量 2×/5× Taq-AS PCR 或 2×/5× Taq-AS PCR Mix(+Dye)，加入模板和引物，并加入 ddH₂O 补足体积，使反应体系浓度为 1×，即可进行 PCR 反应。PCR 产物 3' 端带突出 A 碱基，纯化后可直接用于 T/A 克隆。

该 Mix 中的 Taq DNA 聚合酶为筛选获得的 Taq-AS(AdvancedStrong)DNA Polymerase 突变体，能够高效扩增 ≤5 kb 的 DNA 片段，具有良好抑制剂耐受能力，其扩增速度约为普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍，因此可大幅度减少 PCR 延伸过程所需要的时间，达到缩短整个 PCR 反应的目的。不同于融合蛋白原理的快速 Taq 聚合酶，Taq-AS 的使用更加接近 WT-Taq，不易出现电泳条带弥散、拖带或者片段大小改变等状况。

Taq-AS PCR Mix(+Dye)(2×)/(5×)中包含两种染料，PCR 产物无需添加 Loading Buffer 可直接点样电泳，且电泳过程中会出现紫色和黄色两个指示条带。该染料不影响 PCR 扩增效率，但对于需要对 PCR 产物进行吸光度、荧光等光学分析的实验，建议在分析前对 PCR 产物进行纯化。

产品组分：

| 组 分 | 规 格S | 规 格M | 规 格L |
|-------------------------|------|--------|----------|
| 2×Taq-AS PCR Mix | 1 ml | 5×1 ml | |
| 2×Taq-AS PCR Mix (+Dye) | 1 ml | 5×1 ml | 100×1 ml |
| 5×Taq-AS PCR Mix | | 5×1 ml | |
| 5×Taq-AS PCR Mix (+Dye) | | 5×1 ml | |

保存条件：

-20℃保存

质量控制：

核酸内切酶活性检测

将 25μl 2×Taq-AS PCR Mix/2×Taq-AS PCR Mix(+Dye)或 10μl 5×Taq-AS PCR Mix/5×Taq-AS PCR Mix(+Dye)与 200ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50μl 反应体系，在 37℃下，共同温育 4 h 后，使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 2×Taq-AS PCR Mix/2×Taq-AS PCR Mix(+Dye)或 10μl 5×Taq-AS PCR Mix/5×Taq-AS PCR Mix(+Dye)与 15ng 双链 DNA 片段配制成 50μl 反应体系，在 37℃下温育 16h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

使用方法:

常规 PCR 反应体系 (冰上操作)

| 试剂 | 使用量 | 终浓度 |
|------------------------------------------------------|----------|------------|
| 2×Taq-AS PCR Mix/2×Taq-AS PCR Mix(+Dye) ^a | 25 μl | 1× |
| 5×Taq-AS PCR Mix/5×Taq-AS PCR Mix(+Dye) ^a | 10 μl | 1× |
| 正向引物 (10 μM) ^b | 1~2 μl | 0.2~0.4 μM |
| 反向引物 (10 μM) ^b | 1~2 μl | 0.2~0.4 μM |
| 模板 DNA ^c | x μl | |
| ddH ₂ O | To 50 μl | |

a. 需融解完全后使用,防止离子浓度不均匀;

b. 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;

c. 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。

三步法 PCR 反应程序

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|------------------|---------|------------|-------------|
| 预变性 ^d | 94°C | 3~5 min | 30~35Cycles |
| 变性 | 94°C | 30 s | |
| 退火 | 55~65°C | 30 s | |
| 延伸 | 72°C | 20~40 s/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 5 min | |

二步法 PCR 反应程序(目的片段 ≥3kb)

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|------------------|------|---------|-------------|
| 预变性 ^d | 94°C | 3~5 min | 30~35Cycles |
| 变性 | 94°C | 30 s | |
| 退火和延伸 | 68°C | 30 s/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 5 min | |

d. 菌落 PCR 时预变性 ≥5min,更有利于破壁。

苏州君跻基因科技有限公司

Add:苏州市吴中区吴淞江大道111号天运广场4号楼2层

Tel: 0512-6799 8818 Web: www.gentlegen.com E-mail:product@gentlegen.com