

Taq-Plus PCR Forest Mix (2×) V2

REF: EG25105-M/L

储运条件

-20℃保存

产品组成

组分	规格 M	规格 L
Taq-Plus PCR Forest Mix (2×) V2	5×1 ml	100×1 ml

产品简介

Taq-Plus PCR Forest Mix (2×) V2 是使用 Taq DNA Polymerase 配制的 PCR 反应预混液，已包含反应缓冲液、dNTP 等组分，方便快捷，能减少 PCR 操作过程中的污染。使用时只需取适量 Taq-Plus PCR Forest Mix (2×) V2，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。

该 Mix 最长可扩增 5 kb DNA 片段，具有良好的扩增特异性和模板兼容性，PCR 产物 3' 端带突出 A 碱基，纯化后可直接用于 T/A 克隆。

PCR Mix 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，或使用无染料的 Taq-Plus PCR Master Mix (2×)。

质量控制

核酸内切酶活性检测

将 25 μl Taq-Plus PCR Forest Mix V2 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50 μl 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 25 μl Taq-Plus PCR Forest Mix V2 与 15 ng 双链 DNA 片段配制成 50 μl 反应体系，在 37℃ 下温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
Taq-Plus PCR Forest Mix (2×) V2	25 μl	1×
正向引物 (10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物 (10 μM) ^a	1~2 μl	0.2~0.4 μM
模板 DNA ^b	x μl	
ddH ₂ O	To 50 μl	

a. 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；

b. 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。

2. 常规 PCR 反应程序

步骤	温度	时间
预变性 ^a	95℃	3~5 min
变性	95℃	30 s
退火	55~65℃	30 s
延伸 ^b	72℃	30~60 s/kb
终延伸	72℃	5 min

30~35 Cycles

a. 该预变性条件适合绝大多数扩增反应，对于菌落 PCR，大肠杆菌菌落 PCR：建议将预变性调整 10 min，无需预裂解即可高效扩增；酵母菌菌落 PCR：无需调整预变性时间，但需要对酵母菌进行预裂解。建议使用以下预裂解方式：向酵母菌中添加终浓度 20 mM 的 NaOH 后 95℃ 预裂解 10 min，或将酵母菌使用液氮反复冻融 2~5 次；

b. 关于延伸速率，当目的片段长度不超过 3 kb 时，推荐使用 30 s/kb；当目的片段长度大于 3 kb 时，推荐使用 60 s/kb。

3. 凝胶浓度对应的染料迁移距离

琼脂糖凝胶浓度	橙色条带	蓝色条带
0.8%	~80 bp	4000 bp
1.0%	~40 bp	2000 bp
1.5%	~20 bp	1500 bp
2.0%	<10 bp	1200 bp
2.5%	<10 bp	1200 bp
3.0%	<10 bp	1200 bp

注：染料会影响吸光度。