

2× PCR Mix (With Dye)

REF: BGD-1010

储运条件

-20℃ 保存

产品组成

组分	BGD-1010	BGD-1011
2× PCR Mix (With Dye)	1 ml	5×1 ml

产品简介

PCR Mix (+Dye) 的浓度为 2×，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×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。

该 Mix 中的 Taq 为筛选获得的突变体 Taq Advanced Strong DNA Polymerase，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。

本 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。PCR 产物 3' 端带 A 碱基，纯化后可直接用于 T/A 克隆。

质量控制

核酸内切酶残留检测

将酶液与超螺旋质粒 DNA 在 37℃ 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

核酸外切酶残留检测

将酶液与双链 DNA 底物在 37℃ 温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

稳定性测试

室温存放一周，无明显活性改变。

功能检测

以拟南芥基因组 DNA 和人基因组 DNA 为模板，扩增 5 kb 片段，30 个循环后经琼脂糖凝胶电泳检测可见目的条带。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系 (冰上操作)

试剂	使用量	终浓度
2× PCR Mix (+Dye) ^a	25 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
ddH₂O To 50 μl

a. 需溶解完全后使用，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。

2. 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	
预变性 ^a	94℃	3~5 min	
变性	94℃	30 sec	30~35 Cycles
退火	55~65℃	30 sec	
延伸	72℃	20~40 s/kb	
终延伸	72℃	5 min	

3. 二步法 PCR 反应程序 (目的片段 ≥3kb)

步骤	温度	时间	
预变性 ^a	94℃	3~5 min	
变性	94℃	30 sec	30~35 Cycles
退火和延伸	68℃	30 s/kb	
终延伸	72℃	5 min	

d. 菌落 PCR 时预变性 ≥5min，更有利于破壁。