产品组分

组分名称	组分编号	规格 1 1 mL	规格 2 5 mL
Taq 2X PCR Mix V2	RM20390	1 mL	1 mL × 5

产品说明

Taq 2X PCR Mix V2 是经过优化的 PCR 预混液，包含有 *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、$MgCl_2$、KCl 及其他稳定剂等，只需加入模板和引物即可进行扩增。*Taq* DNA 聚合酶具有 5′-3′聚合酶活性和 5′-3′核酸外切酶活性，无 3′-5′核酸外切酶活性。PCR 产物 3′含有单 dA 核苷酸突出末端，可以用于 dT /dU 末端载体的连接。

本产品适用于常规 PCR 扩增，模板可以是纯化的 DNA、细菌菌落/菌液、粗提物或 cDNA 等。该产品可以以不同来源的基因组 DNA 为模板扩增 5 kb 长度的目的片段。适用于 PCR 反应、菌落 PCR 鉴定、粗提样本扩增等应用。

保存温度

-20℃

操作说明

标准操作

1. 推荐将所有的反应组分在冰上配制，然后快速将反应体系转移到预热到 94℃ 的 PCR 仪中。
2. 推荐的 PCR 反应如下：

PCR 反应体系

组分	25 μL	50 μL	终浓度
Taq 2X PCR Mix V2	12.5 μL	25 μL	1X
上游引物（10 μM ）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
下游引物（10 μM ）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
Nuclease-free Water	to 25 μL	to 50 μL	N/A

*，注：不同 DNA 模板最佳反应浓度不同，可参考 PCR 基本原则。

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	3 min*	1
变性	98℃	5-10 s	30
退火	55-60℃	20-30 s	
延伸	65℃	1.0 kb/min	
终延伸	65-68℃	5 min	1
Hold	4-12℃	-	1

*，注：菌落 PCR 建议预变性时间为 2-5 min。

PCR基本原则

1. 模板

使用高质量纯化的 DNA 模板将增加 PCR 的成功率，在 50 μL 反应体系中推荐加入的 DNA 模板量如下：

DNA 类型	模板量
植物，动物及人基因组 DNA	10 ng-100 ng
Ecoli DNA，lambda DNA	100 pg-200 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng

注意：如果 DNA 模板是从 cDNA 合成反应中获得的，则添加的体积应小于总反应体积的 10%。若扩增长片段，可适当增加模板投入量。

2. 引物

寡核苷酸引物长度通常是 20-40 nt，理想 GC 含量 40-60%。可以使用软件例如 Primer 3 设计和分析引物。PCR 反应体系中每条引物的终浓度可以在 0.05-1 μM 范围内调整，一般使用 0.1-0.5 μM。

3. Mg^{2+}和添加剂

在 *Taq* 2X PCR Mix V2 中，Mg^{2+}浓度应在 4 mM，dNTP 的浓度为 300 μM。对于一些扩增困难的样本，例如高 GC 的 DNA 样本，可能需要在 PCR 反应体系中加入添加剂，例如 DMSO 或甲酰胺等。

4. 变性

94℃ 预变性 3 min 对大多数纯化的 DNA 模板能充分变性，对复杂的模板，例如高 GC 序列，可以延长预变性时间到 5 min 以充分变性。对于菌落/菌液 PCR，推荐 94℃ 预变性 5 min 以充分裂解菌体。在扩增循环中，推荐的变性条件是 98℃ 10 s。

5. 延伸

推荐使用 65℃的延伸温度，延伸时间与扩增片段长度有关，可以按照 1 kb/min 的速度计算延伸时间；在 PCR 循环结束之后，需要在 65℃条件下再延伸 5 min。

6. 循环数

通常进行 25-35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。若需要检测低拷贝基因，可以将循环数增至 45。