

【产品概述】

2× Taq PCR Master Mix 是一种包含了 Taq DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺、PCR 缓冲液等除了模板 DNA 和引物以外所有扩增所需成分的即用型 2×预混液。使用时用户只需加入模板 DNA、引物和水即可快速完成 PCR 体系的配制，极大缩短实验操作时间并降低由于操作失误带来实验失败的风险。精心优化的缓冲体系能确保预混液在多次冻融后仍保持稳定的聚合活性。

本产品提供不含染料版本（M3TA02）和含染料版本（M3TA03）。含染料预混液的 PCR 产物可在扩增结束后直接用于电泳分析，简便快捷。

【产品特点】

- 操作简单：仅需加入模板、引物和水即可快速完成反应体系配制
- 高速扩增：1Kb 以内目的片段仅需 1sec 延伸时间
- 性能稳定：多次冻融及一定时间室温保存后仍保持稳定的聚合酶活性

【产品组分】**2× Taq PCR Master Mix**

组分	M3TA02-01 (100 rxns)	M3TA02-02 (500 rxns)	M3TA02-03 (2500 rxns)
----	-------------------------	-------------------------	--------------------------

2× Taq PCR Master Mix	1 mL	5×1 mL	5×M3TA02-02
-----------------------	------	--------	-------------

2× Taq PCR Master Mix (with Dye)

组分	M3TA03-01 (100 rxns)	M3TA03-02 (500 rxns)	M3TA03-03 (2500 rxns)
----	-------------------------	-------------------------	--------------------------

2× Taq PCR Master Mix (with Dye)	1 mL	5×1 mL	5×M3TA03-02
----------------------------------	------	--------	-------------

【储存和运输】

干冰或冰上运输，-20℃避光保存；避免反复冻融。



【实验操作】

1. 反应体系

组分	推荐用量	推荐终浓度
2× Taq PCR Master Mix (M3TA02 / M3TA03)	10 µL	1×
Forward Primer (10 µM)	0.2-2 µL	0.1 - 1 µM
Reverse Primer (10 µM)	0.2-2 µL	0.1 - 1 µM
Template DNA	Variable*	-
ddH ₂ O	to 20 µL	-

* 根据模板类型及模板浓度对投入的体积进行适当调整。

2. 扩增程序

步骤	温度	时间	循环数
Pre-denaturation	95°C	3 min*	1
Denaturation	95°C	15 sec	
Annealing	60°C**	15 sec	30-35
Extension	72°C	30 sec/kb***	
Extension	72°C	5 min	1

*该预变性条件适合绝大多数扩增反应。若模板结构复杂, 可将预变性时间延长至 5 - 10 min 以提高预变性效果;

**根据引物 T_m 值适当调整退火温度。一般设置成低于引物 T_m 值 3 ~ 5°C 即可; 对于复杂模板, 可以通过调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增;

***针对大于 3Kb 的目的片段, 建议按 60sec/Kb 或更长设定延伸时间, 以确保最佳扩增效果。

【注意事项】

由于 Taq DNA Polymerase 在室温下也有一定活性, 配制体系时请在冰上操作, 并尽量减少操作时间, 以降低非特异性扩增。引物设计注意事项如下:

1. 可以使用 Primer-BLAST 等在线软件或其他专业软件进行引物设计, 确保引物较高的特异性;
2. 引物 3'端应避免出现发夹结构;
3. 正向引物和反向引物的 T_m 值相差不超过 1°C 为佳, T_m 值调整至 55 ~ 65°C 为佳;
4. 引物的额外附加序列, 即与模板非配对序列, 不应参与引物 T_m 值计算;
5. 引物的 GC 含量控制在 40% - 60% 之间;
6. 引物 A、G、C、T 整体分布要尽量均匀, 避免使用 GC 或者 AT 含量高的区域;
7. 引物内部或者两条引物间避免有 5 个碱基以上的互补序列, 两条引物的 3'端避免有 3 个碱基以上的互补序列。

