

2×La Taq PCR Mix

包装量:

目录编号	包装单位
151502(含染料) 151512(不含染料)	1ml
151503(含染料) 151513(不含染料)	5ml

产品组成、储存、浓度:

目录编号	151502 (含染料)	151503 (含染料)
组成	151512 (不含染料)	151513 (不含染料)
2×La Taq PCR Mi	1ml	5ml

储存: -20 °C 保存。浓度: 0.1U/μl

制品说明: 本产品包含 La Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液, 浓度为 2×。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点, 可最大限度的减少人为误差。使用时只需加入 DNA 模板和引物既可。可用于长片段 DNA 扩增和 GC 含量高, 二级结构丰富的片段扩增。

本产品使用方便快捷, 能避免 PCR 操作过程中的污染, 使用时只需取适量 2×La Taq PCR Mix 溶液, 加入模板和引物, 并加入去离子水补足体积, 使 Mix 溶液浓度为 1×即可进行反应。使用前请保证充分溶解并混匀, 操作需在冰上进行。

产品内容: La Taq DNA Polymerase (recombinant): 0.05units/μl ; MgCl₂: 4mM ; dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP): 0.4mM

质量控制: 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA ; 能有效地扩增人基因中的单拷贝基因; 室温存放一周, 无明显活性改变。

反应举例: (提示: 以下举例仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据实际情况, 设定最佳反应条件。)

1. 用 2×La Taq PCR Mix 产品, 以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1kb 的片段, 反应体系为 50μl (如反应体系不同, 可按此比例增加或减少用量)。

模板DNA 2.5ng (λ phage) 或者0.5μg (Human) 噬菌体 (0.1-5ng), 人基因组(0.1-1μg)	? μl
引物 1 (20 μM)	0.5-1 μl
引物 2 (20 μM)	0.5-1 μl
2×La Taq Mix	25 μl
ddH ₂ O	补至 50 μl

2. PCR 反应循环的设置:

94°C: 3 min	} 30 cycles
94°C: 30 sec	
55°C: 30 sec	
72°C: 1 min	
72°C: 5 min	

3. 结果检测: 反应结束后取 5μl 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。

注意事项:

1. 扩增长片段强烈推荐使用 0.2μl 薄壁管。其他试管未经测试。较厚的试管在 92°C 时不能有效地使模板变性。变性时, 尽可能缩短变性时间, 降低变性温度。第一步变性在 92~94°C 下进行 2 分钟 (GC 含量高可延长时间达 5 分钟)。长片段在循环过程中尽可能缩短变性时间 (92~94°C 下进行 10-15 秒), 除非模板中富含 GC, 则 95°C 下变性 30 秒。这可以防止 DNA 脱嘌呤和链断裂, 对于所需扩增的基因组 DNA 片段终长度超过 12 kb 时, 应该尽可能的降低变性温度和时间。变性需要的时间在不同的 PCR 仪器上稍有不同。
2. 如果扩增模板 GC 含量高或者扩增片段比较长, 可在反应混合物中加入甜菜碱或者 DMSO, 甜菜碱终浓度 1-2.5M; DMSO 到终浓度 1%-8%, 最常用 2% (<30kb) 或者 4% (>30kb) 往往会改善扩增效果。
3. 扩增长片段, 引物一般终浓度为 0.3-1μM, 长度最好为 27-36bp; 退火温度一般在 65°C-70°C, 此时退火温度和延伸温度基本一致, 可将退火延伸在同一个温度进行, 使用 2 阶段扩增法。当然如果设计的引物在 20bp 左右, 则还是使用传统 3 阶段扩增法为好。