

YALEPIC[®] Taq ZG PCR 预混液 (含染料) YALEPIC[®] Taq ZG PCR MasterMix (Dye)

产品货号

YEM61001-035 (15 ml) ; YEM61001-105 (50 ml) ; YEM61001-205 (100 ml)

产品保存及运输条件

-20°C 避光保存, ≤ 0°C 运输。

产品概述

YALEPIC[®] Taq ZG PCR MasterMix (Dye) 是一款由特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 以及 dNTPs、KCl、MgCl₂ 等优化的缓冲体系配制的 PCR 预混液, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 简化了移液操作, 提高了检测通量和结果的重复性。本产品模板适应性强, 得到的 PCR 产物 3' 端有 "A" 碱基, 可直接用于 T/A 克隆, 以及基因鉴定、菌落 PCR 等实验。产品含染料, 反应结束后可直接电泳。

产品组分

序号	产品组分	YEM61001-035	YEM61001-105	YEM61001-205
①	2 × YALEPIC [®] Taq ZG PCR MasterMix (Dye)	3 × 5 ml	10 × 5 ml	20 × 5 ml
②	Nuclease-free ddH ₂ O	3 × 5 ml	10 × 5 ml	20 × 5 ml

适用范围

本产品广泛适用常规 PCR 扩增反应, 模板可以是纯化的 DNA、细菌菌落/菌液、粗提物或 cDNA 等。

实验流程

1. 配制反应液:

组分	20 μl 体系	50 μl 体系
Template DNA	x μl	x μl
Primer F (10 μM)	1 μl	2.5 μl
Primer R (10 μM)	1 μl	2.5 μl
2 × YALEPIC [®] Taq ZG PCR MasterMix (Dye)	10 μl	25 μl
Nuclease-free ddH ₂ O	Up to 20 μl	Up to 50 μl

* 以 50 μl 体系为例, 推荐使用的模板量如下: 动植物基因组 DNA: 0.1~1 μg; 大肠杆菌基因组 DNA: 10~100 ng; 质粒 DNA: 0.1~10 ng; λDNA: 0.5~10 ng; cDNA: 1~5 μl。cDNA 加入体积不宜超过 PCR 反应总体积的 1/10。

2. PCR 反应程序推荐:

程序	温度	时间	循环
预变性	95°C	3 ~ 5 min	1 cycle
变性	95°C	30 sec	} 30~35 cycles
退火	55 ~ 65°C	30 sec	
延伸	72°C	15 ~ 30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1 cycle

注: 若模板为菌落、菌液, 或具有复杂二级结构、高 GC 含量, 可将预变性时间延长至 5 ~ 10 min。

3. 反应结束后至于 4°C 短期保存待用, 或 -20°C 长期保存。

注意事项

1. 模板: 粗提样品需要减少使用量, 其他样品模板用量参照推荐量。
2. 引物: 长度 20 ~ 40 nt, GC 含量 40 ~ 60%, 引物的终浓度可以在 0.1 ~ 1 μM 范围内调整, 一般使用 0.4 μM 。T_m 值调整至 55 ~ 65°C 为佳。
3. 变性: 95°C 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, 或高 GC 序列, 可以延长预变性时间 5 ~ 10 min 以充分变性。
4. 退火: 默认退火温度为 60°C; 需要根据引物的 T_m 值进行调整, 一般设置成低于引物 T_m 值 3 ~ 5°C 即可; 对于复杂模板, 需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。
5. 延伸: 默认延伸温度为 72°C, 延伸时间取决于扩增基因的长度和复杂程度。平均扩增效率为 2 kb/min, 若产物量少可适度加长延伸时间, 若有杂带可适当减少延伸时间。
6. 通常进行 30 ~ 35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少, 扩增量不足; 如果循环次数太多, 错配机率会增加, 非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断