

2xEsTaqMasterMix

项目号: E666027

储存条件: -20°C 。

产品内容:

E666027	
Component	5ml
2×EsTaqMasterMix (forPAGE)	5×1ml
ddH ₂ O	5×1ml

注意: 2×EsTaqMasterMix 含有 EsTaqDNAPolymerase, 3mMMgCl₂ 和 400μMeachdNTP。

产品简介

本品是由 EsTaqDNAPolymerase、Mg²⁺、dNTPs 以及 PCR 稳定剂和增强剂组成的预混体系, 浓度为 2×。EsTaqDNAPolymerase 具有扩增效率高、错配率低的优良性能。独创的 MasterMix 配方使整个反应体系非常稳定, 超过 98% 的 PCR 扩增能一次成功, 同时复杂模板也能得到有效扩增, 并可最大限度地减少人为误差和污染。本品不含染料, PCR 程序结束后可根据需要加入适量上样缓冲液后进行电泳操作。扩增得到的大部分 PCR 产物 3' 端附有一个“A”碱基, 因此可直接用于 T/A 克隆。主要适用于常规 PCR 反应和对高保真性有要求的基因克隆等实验, PCR 扩增产物专用于聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

质量控制

经检验无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增多种基因组中的单拷贝基因。

使用方法

以下举例为以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1kb 的片段的 PCR 反应体系和反应条件, 实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系

试剂	50 μl 反应体系	终浓度
2×EsTaqMasterMix (forDye)	25 μl	1×
ForwardPrimer, 10μM	2 μl	0.4 μM
ReversePrimer, 10μM	2 μl	0.4 μM
TemplateDNA	<0.5 μg upto50 μl	<0.5 μg/50 μl
ddH ₂ O		

注意：引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	/
预变性	94°C	2 min	/
变性	94°C	30 s	25-35 个循环
退火	55-65°C	30 s	25-35 个循环
延伸	72°C	30 s	25-35 个循环
终延伸	72°C	2 min	/

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，EsTaqDNA Polymerase 的扩增效率为 2kb/min。
- 3) 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。