



## 2x Taq PCR Forest Mix (绿色染料)

产品货号: T0212

存储条件: -20°C

### 产品说明

2x Taq PCR Forest Mix 的浓度为 2x, 使用方便快捷, 能减少 PCR 操作过程中的污染, 使用时只需取适量 2xTaq PCR Forest Mix 绿色, 加入模板和引物, 并加入 ddH<sub>2</sub>O 补足体积, 使反应体系浓度为 1x, 即可进行 PCR 反应。PCR 产物 3'端带突出 A 碱基, 纯化后可直接用于 T/A 克隆。

本产品能够高效扩增 ≤5 kb 的 DNA 片段, 扩增产量高 PCR Mix 中包含两种染料, PCR 产物无需添加 Loading Buffer 可直接点样电泳, 且电泳过程中会出现两个指示条带。该染料不影响 PCR 扩增效率, 但对于需要对 PCR 产物进行吸光度、荧光等光学分析的实验, 建议在分析前对 PCR 产物进行纯化, 或使用无染料的 PCR Master Mix。

### 质量控制

#### 核酸内切酶活性检测

将 25 μl 2xTaq PCR Forest Mix 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50 μl 反应体系, 在 37°C 下, 共同温育 4h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

#### 非特异性核酸酶活性检测

将 25 μl 2xTaq PCR Forest Mix 与 15 ng 双链 DNA 片段配制成 50 μl 反应体系, 在 37°C 下温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

### 使用方法

#### 1. 常规 PCR 反应体系 (冰上操作)

试剂	使用量	终浓度
2xTaq PCR Forest Mix <sup>a</sup>	25 ul	1x
正向引物(10uM) <sup>b</sup>	1~2 ul	0.2~0.4uM
反向引物(10uM) <sup>b</sup>	1~2 ul	0.2~0.4uM
模板 DNA <sup>c</sup>	X ul	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 50 ul	

- 需融解完全后使用, 防止离子浓度不均匀;
- 引物推荐终浓度为 0.2~0.4 μM, 效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整;
- 不同模板最佳反应浓度有所不同, 以 50 μl 体系为例: 模板为基因组 DNA 时一般推荐的使用量为 10~400 ng; 当模板为质粒或病毒 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10 pg~20 ng。

#### 2. 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性 <sup>d</sup>	95°C	3~5 min	30-35cycles
变性	95°C	30 s	
退火 <sup>e</sup>	55~65°C	30 s	
延伸 <sup>f</sup>	72°C	30~60 s/kb	
终延伸	72°C	5 min	

- 菌落 PCR 时预变性 10 min, 可充分破壁细胞, 大肠杆菌或酵母菌均可高效扩增。
- 退火温度请根据引物 T<sub>m</sub> 值设置。如果需要, 推荐通过建立温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度。此外, 退火温度直接决定扩增特异性, 如发现扩增特异性差, 可适当提高退火温度。
- 目的片段长度 < 3 kb, 延伸时间可缩短至 30 s/kb; 目的片段长度 > 3 kb, 延伸时间建议 60 s/kb。

