

2×Green Taq Mix 2×Taq 预混液 (绿色染料)

Gecell
Version 09/22

目录号: 8055

储运条件

-20°C 避光储存

产品组成

组分	规格
2×Green Taq Mix	10×1 ml

产品简介

本产品包含特殊修饰的 Taq DNA Polymerase、dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重复性。特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 大大提高了扩增反应的特异性，2×Green Taq Mix 中加入的保护剂使得反复冻融后仍可保持稳定活性。本产品含有绿色染料，可在反应结束后直接进行电泳，PCR 产物 3' 端带 A，纯化后可直接用于 T/A 克隆。

注意事项

引物设计

1. 引物 3'端最后一个碱基最好为 G 或者 C；引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
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 Tm 值相差不超过 1°C 为佳，Tm 值调整至 55 ~ 65°C 为佳(引物 Tm 值推荐使用 Primer Premier 5 进行计算)；
4. 引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物 Tm 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. 避开引物内部或者两条引物之间有 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；
8. 引物设计完毕请使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

使用方法

一、PCR 反应体系（冰上操作）

试剂	用量
2×Green Taq Mix	25 μl
正向引物 (10 μM)	2.5 μL
反向引物 (10 μM)	2.5 μL
模板 DNA ^a	X μl
ddH ₂ O	To 50 μl

a 下表为 50 μl 反应体系推荐模板用量:

动植物基因组 DNA	0.1 - 1 μg
大肠杆菌基因组 DNA	10-100 ng
λDNA	0.5 - 10 ng
质粒 DNA	0.1 - 10 ng
cDNA	1 - 5 μl

(cDNA 不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

二、PCR 反应程序

步骤	温度	时间	
预变性 ^b	95°C	3min	
变性	95°C	10 sec	} 30~35 Cycles
退火 ^c	55~65°C	10sec	
延伸	72°C	60 s/kb	
终延伸	72°C	5 min	

b. 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将预变性时间延长至 5 - 10 min 以提高预变性效果；

c. 循环反应中的退火温度需要根据引物的 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

常见问题解决方案

	无产物或产物量少	有杂带或弥散条带
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度	尝试提高退火温度，可间隔 2°C 设置温度
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为 0.2 μM
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至 35 - 40 个循环	减少循环数至 25 - 30 个循环
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板用量	粗提样品可能需要减少用量	用量参照反应体系推荐量调整