

特点:

Tiosbio® 2×Taq PCR Mix with dye为即用型 PCR 预混物, 含有Tiosbio® Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、PCR反应缓冲液、PCR增强剂、PCR稳定剂和溴酚蓝染料等, 使用时只需加入模板、引物和灭菌水即可进行 PCR 扩增, 大大简化了试验操作, 提高了试验效率, 减少了 PCR 操作过程中的人为误差。具有经济、简便、重复性高、特异性好、灵敏度高和稳定性好的优点。

包装量及储存条件:

BT0022-1为1mL, 用量为100次(20μL/次); BM1021-5为5mL, 用量为500次(20μL/次)。融化后置于4℃, 3个月内使用完毕, 避免反复冻融。

使用方法:

- 室温融解 Tiosbio® 2×Taq PCR Mix with dye。
- 按下表配制反应体系, 并混合均匀(目的片段≤5kb)。

名称	体积
Tiosbio® 2×Taq PCR Mix with dye	10μL
上游引物(10μM)	1μL
下游引物(10μM)	1μL
模板 DNA	1~200ng*
ddH ₂ O	up to 20μL

*注: 20μL 反应体系模板 DNA 的用量分别为 Genomic DNA 5~50ng; Plasmid DNA 1~5ng; 第一链 cDNA 转录物 0.5~2μL。

- PCR 反应程序的设置: 物种、目的基因及扩增引物均会对 PCR 反应条件造成影响, 每个反应的具体运行程序根据试验情况进行调整。

循环数	温度	时间
1st Cycle	95℃	5min
30~40 Cycles	95℃	15~30sec
	T _m ±5℃	15~30sec
	72℃	1~2kb/min*
Last Cycle	72℃	5min
Hold	4℃	Forever

*延伸时间需根据产物长度进行调整, Taq 酶的延伸速度约为 1~2kb/min。

4、电泳

- (1) 使用 1%~2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 上样量以 1~5μL 为宜;
- (2) PCR Mix 含溴酚蓝等染料, 扩增产物可直接点样、电泳, 无需再加 Loading Buffer;
- (3) 琼脂糖凝胶制作过程需加入 GelRed®、GelGreen®、EB、SYBR Green I 等荧光染料, 或者待电泳结束后进行泡染, 并观察条带。