

Plus Mix

货号: P2031, P2032

产品简介

Plus Mix 是 2×浓缩的 PCR 扩增预混和溶液, 含有抗体修饰的热启动型 Taq Plus DNA 聚合酶、dNTPs、缓冲液等 PCR 扩增必需组分(模板与引物除外)。使用时, 仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR, 大大简化操作过程, 缩短操作时间, 降低污染(加样次数减少)。同时, 由于体系内含有优化剂与增强剂, 能够显著增强 PCR 扩增的灵敏度。扩增产物具有两种末端: 平末端与 3'-dA。

Taq Plus DNA 聚合酶是 Taq DNA 聚合酶与 Pfu DNA 聚合酶的独特比例混合物。其保真性是 Taq DNA 聚合酶的 4 倍, 扩增片段的长度可达 20 kb(简单模板)。在扩增复杂模板(如 GC-rich 或重复序列)时, Taq Plus DNA 聚合酶的扩增效率高于 Taq DNA 聚合酶, 延伸速度为 20s/kb(70~75℃, 简单模板可达 5s/kb)。可用于复杂模板的 PCR 扩增。

产品组成

Component	P2031	P2032
2× Plus Mix	1 ml	1 ml× 5
超纯水	1 ml	1 ml× 5

本产品分含体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品, PCR 扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如无特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	2× Plus Mix ^[1]	25 μl	1×
2	upstream primer (10 μM) ^[2]	2 μl	0.4 μM
3	downstream primer (10 μM) ^[2]	2 μl	0.4 μM
4	template DNA ^[3]	1-4 μl	<1μg
5	超纯水 ^[4]	To 50 μl	-
optional	MgCl ₂ (MgSO ₄)/PCR Enhancer ^[5]	Variable	-

[1] 根据实验需要调整 Plus Mix 用量, 降低终浓度可提高反应特异性, 提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[3] 不同模板最佳用量不同, 部分 DNA 模板建议用量如下表(50 μl 反应体系)。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1μg-1μg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水(Cat. #: P9021/P9022/P9023)。

[5] 可单独订购 25mM MgCl₂(Cat. #: P9031) 和 PCR Enhancer(Cat. #: P9041)。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	25-35
Annealing	55-68℃ ^[1]	30 sec	
Extension	72℃	Variable ^[2]	
Final Extension	72℃	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 20s/kb 来设最佳(简单模板可达 5s/kb)。

3. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl₂（Cat. #: P9031）等可提高产量。

操作注意事项

1 本产品采用改进的抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。

2 Taq Plus DNA 聚合酶的扩增产物有两种末端：平末端和 3'-dA 突出末端。如要进行 TA 克隆，请先进行加 A 反应，以提高克隆效率。（加 A 反应：参考如下体系，72℃，15-30min）

PCR（纯化）产物	1-7 μ l
10 \times Taq Buffer (Mg ²⁺ Plus)	1 μ l
dATP	0.2 mM
Taq DNA 聚合酶	5U
超纯水	To 10 μ l

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65℃之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。