

产品组分

组分名称	组分编号	规格 1 5 mL	规格 2 100 mL
Rapid HS Taq 2X PCR Mix with Dye	RM20455	1 mL × 5	1 mL × 100

产品说明

Rapid HS Taq 2X PCR Mix with Dye 包含热启动 Taq DNA Polymerase、延伸促进因子、扩增增强因子以及优化的缓冲体系, 具有超高的扩增效率, 适用于快速 PCR 反应, 1 kb 以内的极限扩增速度可达 1 s/kb, 大幅节省 PCR 反应时间。试剂中的热启动 Taq DNA 聚合酶是抗体封闭的热稳定聚合酶, 在室温条件下聚合酶活性完全被抑制, 从而避免了在配制 PCR 反应体系等操作过程中产生非特异性扩增和引物二聚体。

本产品适用于以基因组为模板扩增 5 kb 以内片段, 或者以质粒和λDNA 为模板扩增 10 kb 以内片段, 使用时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。体系中加入的保护剂使得本产品经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。此外, 本产品中含有电泳指示剂, PCR 反应结束后可直接进行电泳分析, 不用另外添加 loading buffer, 使用便捷。PCR 产物的 3'端带 A, 可轻松克隆至 T 载体, 并适用于拓扑克隆试剂盒(ABclonal RK30130)。

保存温度

-20°C

操作说明

标准操作

1. 推荐将所有的反应组分在冰上配制, 然后快速将反应体系转移到预热到 95°C 的 PCR 仪中。
2. 推荐的 PCR 反应如下:

PCR 反应体系

组分	25 μL	50 μL	终浓度
Rapid HS Taq 2X PCR Mix with Dye	12.5 μL	25 μL	1X
上游引物 (10 μM)	1 μL	2 μL	0.4 μM
下游引物 (10 μM)	1 μL	2 μL	0.4 μM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
Nuclease-free Water	to 25 μL	to 50 μL	N/A

*, 注: 不同 DNA 模板最佳反应浓度不同, 在 50 μL 反应体系中推荐加入的 DNA 模板量如下, 若扩增长片段, 可适当增加模板投入量:

DNA 类型	模板量
植物, 动物及人基因组 DNA	10 ng-100 ng
<i>E. coli</i> DNA, lambda DNA	100 pg-200 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng
cDNA	1-5 μL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	3 min	1
变性	98°C	10 s	28-35
退火	60°C ^a	30 s	
延伸	65°C	1-10 s/kb ^b	
终延伸	65°C	10 min	1
Hold	4-12°C	-	1

a. 退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整，一般设置为低于引物 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；

b. 延伸时间请根据目的片段长度参考以下方法进行设定：

PCR 类型	目的片段长度	建议延伸时间
单重 PCR	<2 kb	1 s/kb
	<5 kb	5 s/kb
	≤10 kb	10 s/kb

本产品可兼容 ≤10 kb 片段的 9 重扩增，多重扩增延伸时间建议使用 10-30 s/kb。

PCR 基本原则

1. 引物

寡核苷酸引物长度通常是 20-40 nt，理想 GC 含量 40-60%。可以使用软件例如 Primer 5 设计和分析引物。PCR 反应体系中每条引物的终浓度可以在 0.05-1 μM 范围内调整，一般使用 0.1-0.5 μM。

2. Mg²⁺ 和添加剂

在 Rapid HS Taq 2X PCR Mix with Dye 中，Mg²⁺ 浓度为 6 mM，dNTP 的浓度为 800 μM。对于一些扩增困难的样本，例如高 GC 的 DNA 样本，可能需要在 PCR 反应体系中加入添加剂，例如 DMSO 或甲酰胺等。

3. 变性

95°C 预变性 3 min 对大多数纯化的 DNA 模板能充分变性，对复杂的模板，例如高 GC 序列，可以延长预变性时间到 5 min 以充分变性。

4. 延伸

推荐使用 65°C 的延伸温度，延伸时间与扩增片段长度有关，可以按照推荐的 1-10 s/kb 的速度计算延伸时间；在 PCR 循环结束之后，需要在 65°C 条件下再延伸 10 min。

5. 循环数

通常进行 28-35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。若需要检测低拷贝基因，可以将循环数增至 45。