



Code No. DTM-101  
保存温度  $-20^{\circ}\text{C}$

## Quick Taq HS DyeMix

本品为预混了 Taq DNA polymerase 的  $2\times$  Master Mix (采用热启动、添加了电泳染料)。只需加入模板和引物,即可进行 PCR, 反应溶液可直接用于电泳分析。此外,在 Master Mix 中预混抗 Taq 抗体,通过热启动法,大幅提高了特异性,可期待高效率的扩增。

### 特征

- 简单·迅速地 PCR**  
 本品为  $2\times$  Master Mix, 只需加入模板和引物,即可方便地使用。  
 由于预混了染料(BPB), PCR 后可直接用于电泳上样。
- 优秀的 PCR 表现**  
 通过对 Buffer 组分的最优化,与 Taq DNA polymerase 相比,PCR 性能有了大幅度的提高。
- 采用热启动 PCR**  
 采用使用抗 Taq DNA polymerase 抗体的热启动法,显示了高灵敏度和高特异性。
- 保存稳定性高**  
 经验证,反复冻融 30 次、 $4^{\circ}\text{C}$  状态下保存 3 个月对品质没有影响。

### 1. 产品组成

2x Quick Taq HS DyeMix	1.25ml $\times$ 2 支
------------------------	---------------------

※ 反应体系为  $50\mu\text{l}$  时,可使用 100 次。

※ 短期内(3 个月以内)连续使用完,可  $4^{\circ}\text{C}$  保存。长期不使用时请于  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

### 2. 注意事项

本产品为**科研用试剂**。请勿作为诊断或临床检查用试剂使用。此外,对本产品的有害性调查还不十分全面,因此,在使用过程中,请一定要严格遵守实验室作业的一般注意事项,适当使用防护用品,安全操作。

### 3. PCR Protocol

#### (1) PCR 反应液的配制

配制反应液之前,请充分搅拌 Quick Taq HS DyeMix, 注意**不要使其起泡**。如试剂发生冻结,则先使其充分解冻。

	使用量	终浓度
Autoclaved, distilled water	X $\mu\text{l}$	
2x Quick Taq HS DyeMix	25 $\mu\text{l}$	1 $\times$
10 pmol / $\mu\text{l}$ Primer #1	1.0 $\mu\text{l}$	0.2 $\mu\text{M}$
10 pmol / $\mu\text{l}$ Primer #2	1.0 $\mu\text{l}$	0.2 $\mu\text{M}$
Template DNA	Y $\mu\text{l}$	{ Genomic DNA $\sim$ 200 ng / 50 $\mu\text{l}$ Plasmid DNA $\sim$ 50 ng / 50 $\mu\text{l}$ 菌落(※参照实验例)
Total	50 $\mu\text{l}$	



< 产品内容·技术相关的咨询 >

东洋纺(上海)生物科技有限公司

TEL: 021-5879 4900 FAX 021-5879 4901

营业时间: 9:00~17:00 (双休日及国定节假日除外)

E-mail: tech@bio-toyobo.cn

[URL] <http://www.bio-toyobo.cn>

PCR 循环条件

3步法		2步法	
Pre-denature :	94°C, 2min.	Pre-denature :	94°C, 2min.
Denature :	94°C, 30sec.	Denature :	94°C, 30sec.
Annealing :	(T <sub>m</sub> -5)°C, 30sec.	Extension :	68°C, 1min./kb
Extension :	68°C, 1min./kb		

- 延伸时间(Extension)请按目的片段链长设定为1min./kb。
- 引物的T<sub>m</sub>不满73°C的情况下, 请用3步法。

4. 为 PCR 顺利进行需要注意:

- (1) 反应用离心管请尽量用薄壁管。为提高可重复性, 建议 PCR 反应体系设为 50 μl。
- (2) 引物请选择 GC 含量不高的 22~35mer(T<sub>m</sub> 值>60°C)。同时, 设计引物时注意避免分子内二级结构、引物二聚体等。
- (3) 模板 DNA 的长度及纯度对 PCR 的结果有很大影响。如果模板 DNA 的量较宽裕, 则建议事先进行电泳以确认其品质。

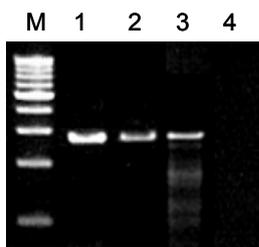
5. 关于 PCR 产物的克隆

- (1) 由于 PCR 溶液里含有电泳染料(BPB), 且比重已经过调整, PCR后, 可直接用于电泳上样。
- (2) 用本产品扩增的 PCR 产物, 可用 TA 克隆法进行克隆。用本公司高效率 TA 克隆试剂盒『Target Clone』(Code No. TAK-101)可简便地进行 TA 克隆。(※一般情况下, PCR 产物无需纯化, 如果 TA 克隆效率较低, 则请进行纯化。)

6. 实验例

(1) 人 p53 基因(2.9 kb)的扩增

以人基因组 DNA(50ng)为模板, 以较难扩增的人 P53 基因(2.9kb)为目的片段进行扩增。结果可见, 使用 Quick Taq HS Dye Mix 可得到最高效率和最高特异性。另外, 可知在不采用热启动法的情况下(3、4 泳道), 特异性及灵敏度都很低(Quick Taq HS Dye Mix 采用热启动法)。



◀ 2.9 kb

模板: 人基因组 DNA 50ng/50μl 反应	< 扩增条件 >
M: 1kb Ladder	94°C 2min.
1. Quicker Taq HS Dye Mix	94°C 30sec.
2. rTaq DNA polymerase(采用热启动)	60°C 30sec. 40cycles
3. rTaq DNA polymerase	68°C 3min.
4. A 公司 Taq Master Mix	

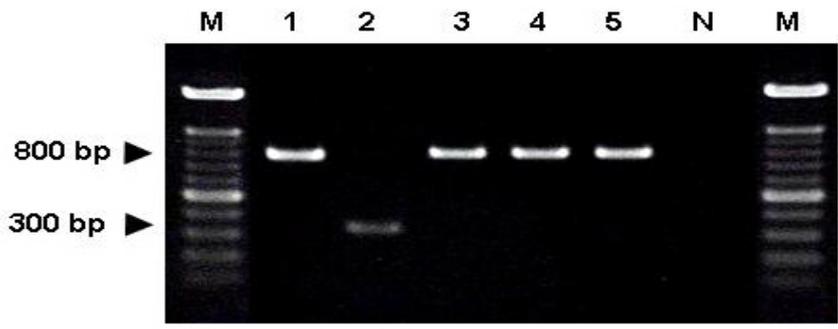
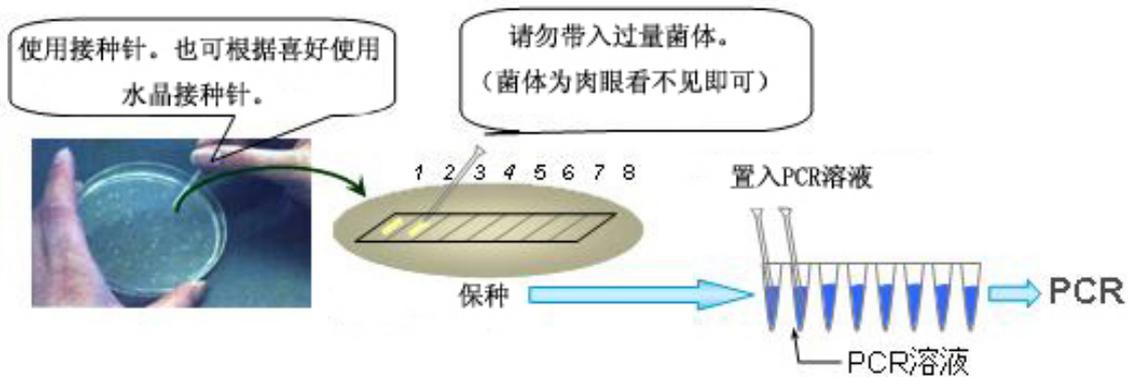
Forward Primer : AATGGATGATTTGATGCTGTCCC

Reverse Primer : ATAAGAGCTCCCAAGACTTAG

※引物终浓度 0.2μM

(2) 用菌落直接 PCR 法进行插入确认

以对质粒 pTA2 (包含 500bp 的插入片段) 进行转化的大肠杆菌 DH5α 的菌落为样品, 使用在载体上设计的引物进行 PCR。结果可见, 不同大小的目的片段均可获得明亮的条带。本试剂最适用于菌落直接 PCR 法。



M: 100 bp Ladder  
 1: 菌落 (插入片段+)  
 2: 菌落 (插入片段-)  
 3: 菌落 (插入片段+)  
 4: 菌落 (插入片段+)  
 5: 菌落 (插入片段+)  
 N: 阴性对照  
 M: 100 bp Ladder

< 扩增条件 >

94°C	2 min.	} 25 cycles
94°C	30 sec.	
62°C	30 sec.	
68°C	1min.	

Forward Primer :  
 CGCCAGGGTTTTCCCAGTCACGAC  
 Reverse Primer :  
 AGCGGATAACAATTTACACAGGAAAC  
 ※ 引物终浓度为0.2μM

7. 常见问题

问题	原因	对策
无法确认到扩增产物 扩增量少	•循环数太少	•增加 2~5 个循环数
	•引物问题	•确认引物品质→重新合成•配制 •重新设计引物
	•模板DNA纯度低	•确认模板DNA的纯度→提高模板 DNA 的纯度
	•模板 DNA 量过少	•使用适量的模板 DNA
	•菌体量过多	•减少带入菌体(菌落)的量
出现 smear、非特异性条带	•循环数过多	•减少 2~5 个循环数
	•引物浓度过高	•以 0.1~0.2 μM 为范围尝试
	•退火温度过低	•以 55~65°C为范围尝试
	•引物问题	•确认引物品质→重新合成•配制 •重新设计引物
	•模板DNA量过多	•使用适量的模板 DNA

8. 相关产品

品名	包装	Code No.
<高效率 TA 克隆试剂盒> TArget Clone	10 次份	TAK-101
<利用磁珠 DNA fragment 纯化试剂盒> MagExtractor -PCR & Gel Clean up-	200 次份	NPK-601

[制造・销售商]

东洋纺(上海)生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路 188 号汤臣商务中心 C 座 310 室

邮编: 200122

交货期限・订货相关咨询

Tel:021-5879-4900 Fax:021-5879-4901

E-Mail:sales@bio-toyobo.cn

产品内容・技术相关咨询

Tel:021-5879-4142 Fax:021-5879-5259

E-Mail:tech@bio-toyobo.cn

<http://www.bio-toyobo.cn>



<产品内容・技术相关的咨询>

东洋纺(上海)生物科技有限公司

TEL: 021-5879 4900 FAX 021-5879 4901

营业时间: 9:00~17:00 (双休日及国定节假日除外)

E-mail: tech@bio-toyobo.cn

[URL] <http://www.bio-toyobo.cn>