

Magen Fast PCR Mix (2×)

REF: MD70301

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Magen Fast PCR Mix (2×)	10×1 ml

产品简介

Magen Fast PCR Mix (2×), 使用方便快捷, 能减少 PCR 操作过程中的污染, 使用时只需取适量 Magen Fast PCR Mix (2×), 加入模板和引物, 并加入 ddH₂O 补足体积, 使反应体系浓度为 1×, 即可进行 PCR 反应。PCR 产物 3' 端带突出 A 碱基, 纯化后可直接用于 T/A 克隆。

该 Mix 中的 Taq DNA 聚合酶为筛选获得的 Fast Taq DNA Polymerase 突变体, 能够高效扩增 ≤5 kb 的 DNA 片段, 具有良好抑制剂耐受能力, 其扩增速度约为普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍, 因此可大幅度减少 PCR 延伸过程所需要的时间, 达到缩短整个 PCR 反应的目的。不同于融合蛋白原理的快速 Taq 聚合酶, Fast Taq 的使用更加接近 WT-Taq, 不易出现电泳条带弥散、拖带或者片段大小改变等状况。

质量控制

核酸内切酶活性检测

将 25 μl Magen Fast PCR Mix (2×) 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50 μl 反应体系, 在 37°C 下, 共同温育 4 h 后, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性检测

将 25 μl Magen Fast PCR Mix (2×) 与 15 ng 双链 DNA 片段配制成 50 μl 反应体系, 在 37°C 下温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系 (冰上操作)

试剂	使用量	终浓度
Magen Fast PCR Mix (2×) ^a	25 μl	1×
正向引物 (10 μM) ^b	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物 (10 μM) ^b	1~2 μl	0.2~0.4 μM
模板 DNA ^c	x μl	
ddH ₂ O	To 50 μl	

a. 需融解完全后使用, 防止离子浓度不均匀;

b. 引物推荐终浓度为 0.2~0.4 μM, 效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整;

c. 不同模板最佳反应浓度有所不同, 以 50 μl 体系为例: 模板为基因组 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10~400 ng; 当模板为质粒或病毒 DNA 时, 一般推荐的使用量为 10 pg~20 ng。

2. 三步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间
预变性 ^d	94°C	3~5 min
变性	94°C	30 s
退火	55~65°C	30 s
延伸	72°C	20~40 s/kb
终延伸	72°C	5 min

← 30~35 Cycles

3. 二步法 PCR 反应程序 (目的片段 ≥3kb)

步骤	温度	时间
预变性 ^d	94°C	3~5 min
变性	94°C	30 s
退火和延伸	68°C	30 s/kb
终延伸	72°C	5 min

← 30~35 Cycles

d. 菌落 PCR 时预变性 ≥5min, 更有利于破壁。