

5×Taq-AS PCR Mix (+Dye)
REF: EG22101M

储运条件
-20℃

产品组成

组分	规格
5×Taq-AS PCR Mix (+Dye)	5×1 ml

产品简介

Taq-AS PCR Mix (+Dye) 的浓度为 5×，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 5×Taq-AS PCR Mix (+Dye)，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 Taq-AS(Advanced Strong) 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，Taq-AS 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。

本 PCR Mix 中包含两种染料，PCR 产物无需添加 Loading Buffer 可直接点样电泳，且电泳过程中会出现紫色和黄色两个指示条带。该染料不影响 PCR 扩增效率，但对于需要对 PCR 产物进行吸光度、荧光等光学分析的实验，建议在分析前对 PCR 产物进行纯化。

质量控制

核酸内切酶活性检测

将 10 μl 5×Taq-AS PCR Mix (+Dye) 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 配制成 50 μl 反应体系，在 37℃ 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 10 μl 5×Taq-AS PCR Mix (+Dye) 与 15 ng 双链 DNA 片段配制成 50 μl 反应体系，在 37℃ 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
5×Taq-AS PCR Mix (+Dye) ^a	10 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℃	3~5 min
变性	94℃	30 s
退火	55~65℃	30 s
延伸	72℃	20~40 s/kb
终延伸	72℃	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℃	3~5 min
变性	94℃	30 s
退火和延伸	68℃	30 s/kb
终延伸	72℃	5 min

30~35 Cycles

d. 菌落 PCR 时预变性 ≥5min，更有利于破壁。