

2×ExtraTaq™ SYBR PCR Mix

PCR 反应预混液 • 热启动

LEMNIS CARE™

LemnisCare Medical Technology

请仔细阅读说明书并按规范使用

LS-SX03-1812-5005

产品简介

本产品混合 ExtraTaq™ DNA 聚合酶、PCR 反应缓冲组分、dNTP 染料等，补加引物、模板和去离子水即可进行 PCR 反应。ExtraTaq™ DNA 聚合酶是一种化学修饰的、性能优良的热启动 DNA 聚合酶。在 50°C 或以下，无活性，在 95°C 保温 10 分钟后，恢复活性。因此，可有效地抑制非特异性产物的产生。

储存溶液

ChemTaq DNA 聚合酶，染料，dNTP，Tris-HCl，KCl，MgCl₂，(NH₄)₂SO₄ 等。

保存条件

-20 °C 保存，有效期 12 个月。

应用范围

荧光 PCR，多重 PCR。

应用实例

A. 反应体系配制

组分	体积	建议用量
10×ExtraTaq™ SYBR PCR Mix	10 µl	10 µl
上游引物 (10 µM)	0.4-1 µl	0.5 µl
下游引物 (10 µM)	0.4-1 µl	0.5 µl
模板 DNA	<500 ng	/
ddH ₂ O	补加至 20 µl	/

a. 推荐仅当扩增片段 GC 含量 > 60% 且优化条件也无法正常扩增时使用。

b. 对于大部分 PCR 反应，Mg²⁺ 最佳终浓度为 1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为 2 mM 的 Mg²⁺，如有需要，可用 25 mM MgCl₂ 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索 Mg²⁺ 最佳使用浓度。

c. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50 µl 反应体系推荐模板使用量：

人基因组 DNA	1~500 ng
大肠杆菌基因组 DNA	1~100 ng
λ DNA	0.1~1 ng
质粒 DNA	0.1~1 ng

* 酶量可在 0.25-1 µL 之间调整。加大酶量在通常情况下可以提高扩增产量，但有可能使特异性下降。使用其他浓度 ExtraTaq™ PCR Mix 时按比例改变酶的体积即可。



B. 反应体系配制

反应条件（两步法）	反应条件（三步法）
热启动：95℃ 10 min	热启动：95℃ 10 min
变性：95℃ 10~20 sec	变性：95℃ 10~20 sec
退火/延伸：60℃ 20~60 sec	退火：56-64℃ 10~20 sec
	延伸：72℃ 10~60 sec
融解曲线分析	融解曲线分析

* 退火温度需要根据引物退火温度调整，一般设置成低于退火温度 1-2 °C即可。

引物设置注意事项

- 1.引物 Tm 值控制在 55 °C-65 °C之间；
- 2.引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物 Tm 值计算；
- 3.引物 GC 含量控制在 40%-60%之间；
- 4.正向引物和反向引物 Tm 值以及 GC 含量尽可能一致；
- 5.引物 3' 端最后一个碱基选择 C 或 G；
- 6.引物 3' 端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
- 7.引物 3' 端尽量避免出现发夹结构。

