

# Premix Ex Taq<sup>®</sup> Version 2.0 (Loading dye mix)

## 使用说明书

TaKaRa Code: D335A

### ●包装量: 500 µl×6支。

50 µl 的 PCR 反应体系 120 次量, 每次使用 25 µl。

### ●制品说明

本制品是 PCR 反应用的 DNA Polymerase、Buffer、dNTP Mixture 的 2 倍浓度的混合物。DNA Polymerase 使用了扩增效率好的 *TaKaRa Ex Taq*。使用时, 只需在制品溶液中加入模板和引物便可进行 PCR 反应, 大大简化了操作过程, 减少了 PCR 操作过程中的污染。本制品扩增性能好, 保存稳定性强。并且, 本制品中已含有电泳时所必需的色素试剂 (蓝色和黄色色素), PCR 反应后可以直接进行电泳。反应液为鲜艳的绿色 (Emerald Green), 电泳时指示效果明显, 容易观察样品的电泳位置。

使用本制品扩增得到的 PCR 产物的 3' 端附有一个“A”碱基, 因此可直接克隆于 T-Vector 中。

### ●Premix 溶液组成

<i>TaKaRa Ex Taq</i>	1.25 U/25 µl
dNTP Mixture	2×conc.; 各 0.4 mM
<i>Ex Taq</i> Buffer	2×conc.; 4 mM Mg <sup>2+</sup>
色素 Marker	Tartrazine/Xylene Cyanol FF
比重增加物	
稳定剂	

### ●保存: -20℃

4℃保存一个月制品性能稳定, 使用频率高时一旦融解后请于 4℃保存, 使用时请颠倒混匀。尽量避免多次反复冻融。

### ●用途

PCR 法扩增 DNA。

### ●PCR 反应性能

- 1) 以 λ DNA 为模板, 可以很好地扩增 20 kbp 的 DNA 片段。
- 2) 以人基因组 DNA 为模板, 可以很好地扩增 3 kbp (p53 基因) 的 DNA 片段。

### ●电泳时色素 Marker 位置

反应液 5 µl, 1% Agarose 电泳时, 蓝色色素在 3~5 kbp 附近, 黄色色素在 50 bp 以下位置。

### ●注意事项

- 1) PCR 反应液请于冰中配制, 然后进行 PCR 反应。这种冷启动法 (Cool Start Method) 可以增加 PCR 扩增的特异性, 得到良好的 PCR 扩增结果。
- 2) PCR 反应液电泳时, 请使用 TAE Buffer。使用 TBE Buffer 电泳时, 样品沉降速度较慢, 有可能造成电泳样品漂出加样孔。

### ●PCR 反应液配制

<i>Premix Ex Taq</i>	25 µl
模板*	X µl
引物 1 (20 µM)	1 µl
引物 2 (20 µM)	1 µl
灭菌蒸馏水	Up to 50 µl

### \*【50 µl PCR 反应体系中模板 DNA 推荐使用量】

人基因组 DNA	0.1 µg~1 µg
大肠杆菌基因组 DNA	10 ng~100 ng
λ DNA	0.5 ng~5 ng
质粒 DNA	0.1 ng~10 ng

### ●PCR 反应条件

3 Step PCR		
98℃	10 sec	} 30 Cycles
55℃ or 60℃	30 sec	
72℃	1 min/kbp	

2 Step PCR		
98℃	10 sec	} 30 Cycles
68℃	1 min/kbp*	

注) PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异, 在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况, 设定最佳的反应条件 (温度、时间等)。

### ●实验例结果

M	1	2	3	4	1% Agarose gel 5 µl 电泳
					M: λ -Hind III digest DNA Marker*
					1: λ DNA 20 kbp PCR 产物
					2: λ DNA 1 kbp PCR 产物
					3: Human DNA 17.5 kbp PCR 产物
					4: Human DNA 3 kbp PCR 产物
					*: TaKaRa Code: D3403A