

Version: AF 5.0 (2023.04.21修订)

2×Spark Taq PCR Master Mix

目录号: AF0102、AF0103

01/产品组分

	AF0102-A	AF0102-B	AF0102-C	AF0103-A	AF0103-B
2×Spark Taq PCR Master Mix	1 mL	1 mL×5	1 mL×50	1 mL	1 mL×5
ddH ₂ O	1 mL	1 mL×5	1 mL×50	1 mL	1 mL×5
染料	+	+	+	-	-

02/保存条件

本产品组分-20℃保存。

03/产品概述

本产品为即用型 2 倍浓度的 PCR 预混液，含有优化浓度的 Spark Taq DNA 聚合酶、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液、PCR 反应增强剂及稳定剂等成分。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好、适用性广等优点，使用时只需加入模板和引物，并用水补足体积，最大程度减少了人为误差、节约时间、降低污染机率。

本产品适用于常规 PCR 反应和大规模基因检测，对 GC 含量高、二级结构复杂的片段及长片段适用性广、扩增能力强，PCR 反应产物 3'末端带 A 尾，纯化后可用于 TA 克隆。

本产品提供含染料和无染料的版本，使用不含染料的产品在 PCR 反应完成后，需要添加上样缓冲液之后才能上样电泳。

04/质量控制

经检测无外源核酸酶活性。

05/适用范围

DNA 扩增和一些有特殊结构、GC 含量高 (>60%) 等复杂模板的扩增：DNA 片段的 PCR 扩增、DNA 标记、引物延伸、序列测定等。PCR 产物末端带 A，纯化后可直接用于 T/A 载体克隆。

06/实验流程

反应体系

以 25 μL ，50 μL 反应体系为例，按照下表配置 PCR 反应体系，各组分解冻后请充分混匀后使用，所有 PCR 操作过程应在冰上进行，用完后请及时放回 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

Components	Volume	Volume	Final Concentration
Template	X μL	Y μL	-
Forward Primer (10 μM)	2 μL	1 μL	0.4 μM
Reverse Primer (10 μM)	2 μL	1 μL	0.4 μM
2 \times Spark Taq PCR Master Mix	25 μL	12.5 μL	1 \times
ddH ₂ O	up to 50 μL	up to 25 μL	-

▲PCR反应体系中，不同模板的最佳反应浓度有所不同，50 μL 体系推荐模板使用量如下：

模板种类	模板使用量
质粒或病毒DNA	1-30 ng
基因组DNA	50-500 ng
cDNA	1-5 μL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

反应程序

95 $^{\circ}\text{C}$:	3 min	} 30-35 cycles
95 $^{\circ}\text{C}$:	15 sec	
T _m :	15 sec	
72 $^{\circ}\text{C}$:	30-60 s/kb	
72 $^{\circ}\text{C}$:	5 min	

▲退火温度需根据引物的 T_m 值进行调整，若有需要，可通过进行退火温度梯度 PCR 寻找引物与模板结合的最佳退火温度。

▲不同种类的模板选择合适的延伸时间有助于提高 PCR 扩增产量，如：对于质粒等简单模板，延伸速度可设定为 15-30 s/kb；对于基因组、cDNA 或其他复杂模板，延伸速度可设定为 30-60 s/kb。

▲以上举例为常规 PCR 反应体系，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件。

07/结果检测

反应结束后取 5 μ L 反应产物，在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。如果 PCR 产品中含染料，扩增后的产物不需加上样缓冲液，可直接进行电泳。

08/相关产品

- AF0701 2 \times Spark FastHiFi PCR Master Mix (with dye)
- AK0101 Spark pBLUE-T Quick Ligation Kit (with T4 Ligase)
- AJ0101 Spark 2000 DNA Marker
- AJ0201 Spark 6 \times DNA Loading Buffer (双染料)
- AJ0208 Spark GoldView
- AE0101 琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒
- AD0102 SPARKeasy 高纯质粒小量快速提取试剂盒

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

