

2 × Magic Green Taq SuperMix

21502

Version 6.2.0

■ 产品简介

本产品包含特殊修饰的 Taq DNA Polymerase、dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重复性。特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 大大提高了扩增反应的特异性，扩增体系中加入的保护剂使得 2 × Magic Green Taq SuperMix 反复冻融后仍可保持稳定活性。本产品含有绿色染料，可在反应结束后直接进行电泳，方便快捷。

■ 产品组成

组分	#21502-01 (10 mL)	#21502-02 (50 mL)
○ 2 × Magic Green Taq SuperMix	10 × 1 mL	5 × #21502-01

■ 保存条件

-20°C 储存，≤0°C 运输。

■ 实验流程

1. 反应体系

组分	20 μL 体系	50 μL 体系
Template DNA ^a	x μL	x μL
Primer F (10 μM)	1 μL	2.5 μL
Primer R (10 μM)	1 μL	2.5 μL
2 × Magic Green Taq SuperMix	10 μL	25 μL
ddH ₂ O	Up to 20 μL	Up to 50 μL

a. 以 50 μL 体系为例，推荐使用的模板量如下表：

模板类型	50 μL 反应体系推荐用量
动植物基因组 DNA	0.1~1 μg
大肠杆菌基因组 DNA	10~100 ng
质粒 DNA	0.1~10 ng
λDNA	0.5~10 ng
cDNA ^b	1~5 μL

b. cDNA 模板加入体积不宜超过 PCR 反应总体积的 1/10。

2. 反应程序

Stage	程序	温度	时间	循环数
Stage 1	预变性 ^c	95°C	3 min	1 cycle
Stage 2	循环反应 ^d	95°C	10 sec	30~35 cycles
		55~65°C	10 sec	
		72°C	60 sec/kb	
Stage 3	彻底延伸	72°C	5 min	1 cycle

c. 如果模板具有复杂二级结构或高GC区域, 可将预变性时间延长至5~10 min 以提高预变性效果;

d. 循环反应中的退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整, 一般设置成低于引物 T_m 值3~5°C即可; 对于复杂模板, 需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

■ 注意事项

	无产物或少量产物	有杂带或弥散条带
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板用量	粗提样品可能需要减少使用量; 其他样品模板用量参照反应体系推荐量并适量增加	模板用量参照反应体系推荐量调整
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至35~40个循环	减少循环数至25~30个循环
退火温度	设置退火温度梯度, 找到合适的退火温度	尝试提高退火温度, 可间隔2°C设置至65°C
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为0.2 μM
引物设计	1. 正向引物和反向引物的 T_m 值相差不超过1°C为佳, T_m 值调整至55~65°C为佳(引物额外附加序列, 即与模板非配对序列, 不应参与引物 T_m 值计算); 2. 引物3'-端最后一个碱基最好为G或者C; 引物3'-端最后8个碱基应避免出现连续错配; 引物3'-端应避免出现发夹结构; 3. 引物A、G、C、T整体分布要尽量均匀, 避免使用GC或者AT含量高的区域; 引物的GC含量控制在40%~60%之间; 4. 避开引物内部或者两条引物之间有5个碱基以上的互补序列, 两条引物的3'-端避免有3个碱基以上的互补序列; 引物设计完毕建议使用NCBI BLAST功能检索引物特异性, 以避免非特异性扩增产生。	