

2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR Master Mix (without dye) 双子叶植物无色"育种 Mix"使用说明书

产品名称	单位	货号
2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (with Green dye)	1 ml	MF738-ND-01
2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (with Green dye)	5×1 ml	MF738-ND-05
2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (with Green dye)	10×1 ml	MF738-ND-10
2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (with Green dye)	100×1 ml	MF738-ND-100

【储存条件】

长期保存,请置于-20°C,有效期24个月。经常使用,可置于4°C保存至少六个月。

【产品简介】

本产品包含高纯度 M5 SuperLight Taq HiFi DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂、优化剂以及稳定剂,浓度为 2×。M5 SuperLight Taq HiFi DNA 聚合酶比普通 Taq 酶扩增效率高、错配率低,具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好、<u>扩增速度快(10-15 秒 1kb)</u>等优点。可最大限度地减少人为误差,可用于高特异性 PCR 反应及 GC 含量较高(>60%)具有二级结构等复杂模板的扩增和大规模基因检测。PCR 产物的 3'端附有一个突出的"A"碱基,纯化后可直接用于 TA 载体克隆(货号MF019 或 MF020)。 本产品有不含染料,在 PCR 反应完成后,需添加上样缓冲液才能上样进行电泳;也可经过纯化处理,以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

lei5bi

【产品组份】

2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (without dye) 1ml Nuclease-free ddH $_2$ O 1ml

【适用范围】

- 1.基因检测:本产品不同批次之间误差很小,特别适合大规模基因检测、半定量 PCR 实验和微量 DNA 的检测。
- 2.用于从复杂模板中如基因组等扩增 PCR 产物,如表达基因的克隆、基因的定点突变和细胞内基因点突变的分析(SNP)等。

【引物设计注意事项】

- 1. 引物 3'端最后一个碱基最好为 G 或者 C;
- 2. 引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配;
- 3. 引物 3'端应避免出现发夹结构, GC 含量控制在 40-60%之间;
- 4. 正向引物和反向引物的 Tm 值相差不超过 1℃为佳, Tm 值调整至 55-65℃为佳;
- 5. 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;
- 6. 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。
- 7. 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;
- 8. 引物设计完毕请使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性,以避免非特异性扩增产生。



【质量控制】

核酸外切酶残留检测: 20 μl 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 37℃下孵育 16 h, DNA 的电泳谱带不发生变化。 核酸内切酶残留检测: 20 μl 本品和 0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA 在 37℃下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带不发生变化。

功能检测:

- 1. 以 10 ng 人基因组 DNA 为模板,可以很好扩增 2.6 kb 的目的片段;
- 2. 以 10 ng 小麦基因组 DNA 为模板,可以很好扩增 4 kb 的目的片段;
- 3. 以 10 ng 烟草基因组 DNA 为模板,可以很好扩增 1.3 kb 的目的片段(AT 含量为 72%);
- 4. 以 50 ng HeLa 细胞总 RNA 对应的 cDNA 为模板,可以很好扩增 4.8 kb 的目的片段。

【所需试剂】

使用者仅需准备 PCR 反应的模板和引物等。

【操作示例】

按下表配制 PCR 反应体系(冰上操作):

Template DNA*	<1µg
2x M5 SuperLight Taq HiFi PCR MasterMix (without dye)	10 μΙ
Primer 1 (10 µM)	0.5 μΙ
Primer 2 (10 µM)	0.5 µl
Nuclease-free ddH ₂ O 补足至	20 µl

建议的 PCR 条件:

95°C	3 min.
32-36 cycles of:	
94°C	15-25 sec.
55–64°C	15-25 sec.
72°C	10-15sec. /1 kb DNA
72°C	5 min.
4°C	forever

<*模板量: 10~1000 ng 基因组 DNA, 1~30 ng 质粒,或 1~2 μl RT-PCR 反应后的 cDNA。以上举例为常规 PCR 反应系统,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,并根据比例放大或缩小反应体系>。

【备注】