



AmpSure™ 2×PCR Mastermix

版本号: 202508V001

Cat.No. LZ2996S

保存条件
-20 °C

产品内容

Component	LZ2996S
	1 mL
AmpSure™ 2×PCR Mastermix	1 mL

注意: AmpSure™ 2×PCR Mastermix 已含有 3 mM MgCl₂ 和 400 μM each dNTP。

产品简介

本品是由 AmpSure™ Taq DNA 聚合酶、Mg²⁺、dNTPS 以及 PCR 稳定剂和增强剂组成的预混体系, 浓度为 2×。AmpSure™ 2×PCR Mastermix 具有扩增效率高、错配率低的优良性能。独创的 MasterMix 配方使整个反应体系非常稳定, 复杂模板也能得到有效扩增, 并可最大限度地减少人为误差和污染。本产品已加入上样缓冲试剂, 反应结束后可直接进行电泳检测。扩增得到的 PCR 产物 3' 端附有一个 "A" 碱基, 因此可直接用于 T/A 克隆。主要适用于常规 PCR 反应和对高保真性有要求的基因克隆等实验。

质量控制

经检验无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增多种基因组中的单拷贝基因。

使用方法

以下举例为以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段的 PCR 反应体系和反应条件, 实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系

试剂	50 μL 反应体系	终浓度
AmpSure™ 2×PCR Mastermix	25 μL	1×
Forward Primer	2 μL	0.4 μM
Reverse Primer	2 μL	0.4 μM
Template DNA	<0.5 μg	<0.5 μg/50 μL
ddH ₂ O	Up to 50 μL	

注意: 引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。

— 1 —

2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	95 °C	2 min	} 25-35 个循环
变性	95 °C	30 s	
退火	55-65 °C	30 s	
延伸	72 °C	30 s	
终延伸	72 °C	2 min	

注意:

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度 T_m 低 5 °C, 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 尝试 Slowdown 等方法由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定, AmpSure™ 2×PCR Mastermix 的扩增速度为 2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少, 扩增量不足; 如果循环次数太多, 错配机率会增加, 非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。
- 4) PCR 反应结束后, 可将反应物短期存放于 4 °C 或长期存放于 -20 °C。
- 5) PCR 产物建议通过琼脂糖凝胶电泳进行后续分析, 如需使用毛细管电泳检测, 请注意稀释产物后检测。
- 6) 如 PCR 产物用于扩增子高通量测序, 请在反应结束后立即纯化 PCR 产物完成测序接头的链接, PCR 产物纯化时间超过 6 小时必须进行末端修复。
- 7) 对于大多数的应用, 95 °C 预变性 2 分钟即可; 如进行菌液 PCR 及高 GC 片段的扩增, 可将预变性时间增加至 5 分钟。
- 8) 如需扩增长片段, 建议预变性温度设置为 60 °C 5 分钟, 95 °C 30 秒; 进入循环后变性温度设置为 98 °C 5 秒, 延伸温度设置为 68 °C。同时考虑添加甜菜碱以达到高效扩增结果。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及商业用途。