

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:190202-5  
低温运输，-20℃保存

**TIANDZ**

# 血液专用 2× PCR Mix 2× PCR MagicMix For Blood

使用手册 V1.7

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是在本公司即用型 PCR 试剂盒 2.0 的基础上改良而来, 内含 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 增强剂、上样染料 (对 A 型)、Hemo-Taq 等 PCR 所需要的成分, 具有广泛的用途。 本产品具有下列特点: ,</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 方便, 用户只需准备模板和引物即可以进行 PCR 实验。</li> <li>2. 产品为 2× 预配液, 操作步骤已经最大限度地简化, 抗污染, 降低实验误差。</li> <li>3. 扩增效率和灵敏度更高。</li> <li>4. 本产品 A 型含电泳染料, PCR 反应液可直接上样电泳, 进一步简化了操作。</li> <li>5. 产物可直接用于 T 载体克隆, 不需要额外的加 A 反应。</li> <li>6. 本产品足够 50 次 40 μL 体系的常规 PCR。</li> <li>7. 本产品只供科研使用。</li> </ol>																				
<p><b>规格及成分</b></p>	<p>注: 本产品 A 型 (190202A) 中直接加入了专用染料, PCR 后可以直接上样电泳。</p> <table border="1" data-bbox="414 817 1481 1057"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>塑料袋包装 -5 规格</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×PCR MagicMix For Blood, 含染料</td> <td>190202a</td> <td>1 mL×5 (红盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>190202sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>本产品 B 型 (190202B) 中没有加入专用染料, 客户需要加上样液后才可上样电泳。</p> <table border="1" data-bbox="414 1120 1481 1359"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>塑料袋包装 -5 规格</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2×PCR MagicMix For Blood, 不含染料</td> <td>190202b</td> <td>1 mL×5 (本色盖)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>190202sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	塑料袋包装 -5 规格	2×PCR MagicMix For Blood, 含染料	190202a	1 mL×5 (红盖)	使用手册	190202sc	1 份	成份	编号	塑料袋包装 -5 规格	2×PCR MagicMix For Blood, 不含染料	190202b	1 mL×5 (本色盖)	使用手册	190202sc	1 份
成份	编号	塑料袋包装 -5 规格																			
2×PCR MagicMix For Blood, 含染料	190202a	1 mL×5 (红盖)																			
使用手册	190202sc	1 份																			
成份	编号	塑料袋包装 -5 规格																			
2×PCR MagicMix For Blood, 不含染料	190202b	1 mL×5 (本色盖)																			
使用手册	190202sc	1 份																			
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输, -20℃ 保存, 有效期一年。</p>																				
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>DNA 模板、引物、超纯水。</p>																				
<p><b>使用方法</b></p>	<p>以 30 μL 的标准 PCR 反应体系为例: 在一干净的 PCR 管中, 加入下列成分:</p> <table border="1" data-bbox="587 1601 1417 2101"> <tbody> <tr> <td>2×PCR MagicMix For Blood</td> <td>15 μL</td> </tr> <tr> <td>DNA 模板(自备)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>哺乳动物基因组 DNA</td> <td>0.5-1 μg</td> </tr> <tr> <td>PCR 回收片段</td> <td>1-100 pg</td> </tr> <tr> <td>PCR 引物(自备)</td> <td>10 pmol each</td> </tr> <tr> <td>补水到</td> <td>30 μL</td> </tr> </tbody> </table>			2×PCR MagicMix For Blood	15 μL	DNA 模板(自备)		哺乳动物基因组 DNA	0.5-1 μg	PCR 回收片段	1-100 pg	PCR 引物(自备)	10 pmol each	补水到	30 μL						
2×PCR MagicMix For Blood	15 μL																				
DNA 模板(自备)																					
哺乳动物基因组 DNA	0.5-1 μg																				
PCR 回收片段	1-100 pg																				
PCR 引物(自备)	10 pmol each																				
补水到	30 μL																				

放入 PCR 仪中进行 PCR, 结束后取 5-10  $\mu\text{L}$  直接上样电泳 (对 A 型产品, 如果是 B 型产品, 则需要额外再加 DNA 上样液后才能电泳), 红色染料电泳速度相当于 50 bp DNA 片段。

**注意:**

1. 如果反应体系不是 30  $\mu\text{L}$ , 各成分需要等按比例增加或减少。
2. 如果 DNA 模板中有 PCR 不明抑制物 (植物、土壤和血液等 DNA 样品常含此类抑制物), 可以在 PCR 体系中加入 1/10 的 PCR 抑制物清除剂 (CAT#: 60804, 30 $\mu\text{L}$  体系中加 3 $\mu\text{L}$ ), 可能会对 PCR 有帮助。

**相关资料**

**PCR 反应的影响因素**

**变性温度与时间:** 模板变性温度是决定 PCR 反应中双链 DNA 解链的温度, 达不到变性温度就不会产生单链 DNA 模板, PCR 也就不会启动。变性温度低则变性不完全, DNA 双链会很快复性, 因而减少产量。变性温度太高, 又会影响酶的活性。一般情况下可设为 94 $^{\circ}\text{C}$  20~30 秒, 高温时间应尽量缩短, 以保持耐热 DNA 聚合酶的活力, 最高变性温度不宜超过 95 $^{\circ}\text{C}$ 。

**退火温度与时间:** 退火温度决定 PCR 特异性与产量。温度高特异性强, 但过高则引物不能与模板牢固结合, DNA 扩增效率下降; 温度低产量高, 但过低可造成引物与模板错配, 非特异性产物增加。合适的退火温度一般在 45~68 $^{\circ}\text{C}$  之间。设置特定反应的最适退火温度, 可根据引物的 (G+C) % 含量进行推测, 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度  $T_m$  低 5 $^{\circ}\text{C}$ , 退火时间一般为 30~60 秒, 足以使引物与模板之间完全结合, 长时间退火没有必要。

**延伸温度与时间:** PCR 反应的延伸温度一般选择在 70~75 $^{\circ}\text{C}$  之间, 延伸时间根据所用聚合酶扩增速度和扩增片段大小设定, 如同样扩增 2 Kb 片段, 若使用 Taq 酶只需 1 分钟, 使用 Pfu 酶则应设定 2 分钟以上。延伸时间过长会导致非特异性扩增带的出现, 时间太短则可能得不到扩增产物或得到一些短的非特异性片段。

**循环次数:** 可根据模板 DNA 的量、扩增片段的大小和扩增产物的下步应用等因素, 设定 20-40 个循环。循环次数太少, 扩增量不足, 如果循环次数太多, 错配几率会增加, 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。

**酶量:** 50  $\mu\text{L}$  反应体系可用 0.5-5 U 酶, 酶量的选择与模板 DNA 的量, 扩增片段大小等有关, 酶量过多易发生非特异性反应, 而且可能增加突变的机率, 尤其在進行高保真扩增时, 应尽量减少酶量, 但酶量过少时反应性能下降。

**模板:** 模板可以是单链 DNA, 也可以是双链 DNA, 质粒 DNA 的扩增效率略低于线状 DNA。模板加量一般不需太多, 不超过 1 μg 为宜, 因为加量过多可能导致非特异性扩增增加, 但是要考虑模板中靶序列的含量。例如, 使用基因组为模板扩增单拷贝或低拷贝靶序列, 就需要适当加大模板用量。

**引物:** 引物与模板配对的长度应至少为 17 个核苷酸, 最高不宜超过 30 个核苷酸, 最佳长度为 20~24 个核苷酸, 如需插入酶切位点, 应在酶切位点 5' 端多加几个碱基, 有利于酶切。引物的 (G+C) % 含量组成应均匀, 尽量避免含有相同的碱基多聚体。两个引物中 (G+C) % 含量应尽量相似。引物内部应避免形成明显的次级结构, 如发夹结构。两个引物之间不应发生互补, 特别是在引物 3' 端。如果可能, 引物 3' 端最好富有 GC, 这样退火后有利于引物 3' 端的延伸。人工合成的引物最好经过色谱层析纯化或 PAGE 纯化, 以除去未能合成至全长的短链等杂质。引物的终浓度一般为 0.1-2 μM 左右, 浓度太高会导致非特异性扩增, 太低则扩增产物太少。

#### 关联产品

PCR Inhibitor Erasol (CAT#:60804)。