



## 2 ×KT Taq Master Mix

### 目录号

MG-PR-04

### 产品组成

组分	规格
2 ×KT Taq Master Mix	5×1.0 mL

### 保存条件

-20℃保存 24 个月。

### 产品简介

本产品包含 Taq DNA Polymerase、dNTPs 以及优化的缓冲体系，浓度为 2×，只需要添加引物、模板和 ddH<sub>2</sub>O 即可进行 PCR 扩增。本产品相对于普通 Taq PCR Mix 具有更高的产量及扩增性能，可有效扩增 5kb 以内的 DNA 片段。体系中包含有蓝色电泳指示剂，可在扩增完成后直接上样进行电泳检测，其迁移速度在 1%TAE 琼脂糖凝胶中与 500bp 双链 DNA 片段相近。使用本产品扩增的产物是混合末端，纯化后可用于平末端克隆，也可用于黏末端克隆。

### 产品特点

- ◇ 操作简单：2×Mix，只需要添加引物、模板和 ddH<sub>2</sub>O 即可进行 PCR 扩增；
- ◇ 耐受性好：对抑制物有较好的耐受度；
- ◇ 产量高：相对普通 TaqPCRMix 具有更高的产量；
- ◇ 适用性广：对多种模板均有良好的扩增性能。

### 适用范围

适用于常规 PCR 扩增。

### 注意事项

1. 当产物产量较低时，可通过增加延伸时间或循环数来改善；
2. PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存；
3. 本产品不可用于细菌 16S 鉴定。

### 使用方法

#### 操作示例

本产品仅供科研使用



按下表配制 PCR 反应体系（冰上操作）

组分	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2 ×KT Taq Master Mix	12.5 μL	25 μL	1×
Primer 1 (10 μM) <sup>a</sup>	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
Primer 2 (10 μM) <sup>a</sup>	1.0 μL	2.0 μL	0.4 μM
Template DNA <sup>*b</sup>	As require	As require	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

- a. 引物：扩增效果较差时，可在 0.2~0.8μM 范围内调整引物终浓度；  
b. 模板推荐量：  
基因组 DNA：10~1000ng；  
质粒 DNA：0.1~30 ng；  
cDNA：1~2 μL(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)。

建议的 PCR 条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	3 min	1
变性	94℃	30 s	30~35 cycles
退火 <sup>a</sup>	55~64℃	30 s	
延伸	72℃	30 s/kb	
终延伸	72℃	5 min	1
	4℃	Hold	-

- a. 退火温度：参考引物 Tm 值，若上下游引物 Tm 相近，建议退火温度设置为引物中 Tm 较小值 +3~5℃； 若上下游引物 Tm 相差较大，建议退火温度设置为引物 Tm 的中间值；亦可采用梯度退火温度，筛选最适温度。

常见问题与解决办法

Q1：扩增无产物或产物量少？

A1：

- 1) 模板降解或模板纯度差。电泳检测模板质量，使用高质量模板；
- 2) 模板浓度过低。适当增加模板用量；
- 3) 引物不合适。优化引物设计；
- 4) 退火温度不合适。设置退火温度梯度，摸索合适的退火温度；
- 5) 循环数过少。适当增加 5~10 个循环；

Q2：扩增出现非特异条带或弥散带？

A2：

本产品仅供科研使用



- 1) 引物特异性差。优化引物，避免非特异性条带以及引物二聚体的扩增；
- 2) 引物浓度过高。降低引物浓度；
- 3) 模板过量或纯度差。减少模板量，使用高质量模板；
- 4) 退火温度过低。适当提高退火温度或使用 Touchdown PCR 程序；
- 5) 循环数过多。减少循环数至 25~30 cycles。