2 ×KT Antitaq PCR Mix

目录号

MG-PR-06

产品组成

组分	规格
2 ×KT Antitaq PCR Mix	5×1.0 mL

保存条件

-20℃保存 24 个月。

产品简介

本产品包含抗体修饰的热启动 KT Antitaq DNA 聚合酶、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_2O 即可进行 PCR 扩增。

使用本产品扩增的 PCR 产物 3’ 端带有一个突出的"A"碱基，纯化后可直接用于 TA 克隆。

产品特点

✧ 操作简单：2×Mix，只需要添加引物、模板和 ddH_2O 即可进行 PCR 扩增；

适用范围

适用于常规 PCR、热启动 PCR。

注意事项

1. 请使用高质量的模板进行扩增；
2. PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存。

使用方法

操作示例

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 Antitaq PCR Mix	12.5 μL	25 μL	1×
Primer 1 (10 μM)	0.5 μL	1.0 μL	0.2 μM
Primer 2 (10 μM)	0.5 μL	1.0 μL	0.2 μM
Template DNA*	As require	As require	
ddH_2O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

*模板推荐量：

基因组 DNA：10~1000ng；

质粒 DNA：1~30 ng；

cDNA：1~2 μL(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)。

（以上为推荐的模板使用量，实际反应条件因模板、引物等的结构不同会存在一些差异，可根据模板、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。）

建议的 PCR 条件

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	2~5 min	1
变性	94℃	30 s	30~35 cycles
退火	50~68℃	30 s	
延伸	72℃	1~2 kb/min	
终延伸	72℃	5~10 min	1
	4℃	Hold	-

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；
6) 延伸时间不足。复杂模板可适当增加延伸速度至 20~30 s/kb。

Q2：扩增出现非特异条带或弥散带?

A2：

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。