**2×Hotstart Taq PCR Mix（Dye plus）**

**■ 制品说明：**

2×Hotstart Taq PCR Mix（Dye plus）是一种预先混合的热启动酶，反应缓冲液，氯化镁和dNTP的浓缩溶液，浓度为2×。DNA扩增时，只需加入模板，引物和水，使mix浓度为1×即可开始PCR反应，减少PCR扩增操作时间，避免因多步操作带来的污染。本试剂含有溴酚蓝染料，PCR产物可以直接用于电泳分析，也适用于纯化回收后进行酶切、链接等实验操作。溴酚蓝在1%TAE琼脂糖凝胶电泳中，其迁移速率与600bp双链DNA相近。

**■产品组成**：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **产品名称** | **包装规格** | |
| **KTSM2113** | **KTSM2114** |
| 2×Hotstart Taq PCR Mix（Dye plus） | 1 ml | 5 ml |

**■保存**：

-20 ℃可保存2年。

**■使用方法**：

1. PCR反应体系配制。

（1）溶解并混匀PCR反应所需的各种溶液，放置于冰浴或冰盒内。建议反应PCR液体分装使用，避免反复冻融；

（2）以50 μl总反应体积为例准备反应体系。如果反应体积有变化，按比例调整用量：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体积** |
| 2×Hotstart Taq PCR Mix（Dye plus） | 25 μl |
| 正向引物（20 μM） | 1μl |
| 反向引物（20 μM） | 1μl |
| 样本模板 | 10 μl |
| ddH2O | 13 μl |
| 总体积 | 50 μl |

注：对于不同类型的模板在50 μl反应体积中推荐用量如下：

哺乳动物基因组DNA：0.1-1μg；

大肠杆菌基因组DNA：10-100ng；

质粒DNA：0.1-10ng

（3）各组分添加完之后，轻柔混匀反应液。如果产生气泡，低速离心以除去气泡。

2. 反应条件设置**(**以1kb DNA片段扩增为例**)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **步骤** | **温度** | **时间** |
| Step1(热激时间) | 95℃ | 2 min |
| Step2(变性) | 94℃ | 30 sec |
| Step3(退火) | 55℃ | 30 sec |
| Step4(延伸) | 72℃ | 1 min |
| Step5(循环) | Go To Step2 for 35 cycls |  |
| Step6(最终延伸) | 72℃ | 10 min |
| Step6(临时保存) | 4℃ | forever |

注：变性条件根据使用的 PCR 仪型号和反应管种类进行设定。