

## 2 × Magic Green Taq SuperMix

# 21502

Version 6.3.0

### ■ 产品简介

本产品包含特殊修饰的 Taq DNA Polymerase、dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，减少了移液操作，提高了检测通量和结果的重复性。特殊修饰的 Taq DNA Polymerase 大大提高了扩增反应的特异性，扩增体系中加入的保护剂使得 2 × Magic Green Taq SuperMix 反复冻融后仍可保持稳定活性。本产品含有绿色染料，可在反应结束后直接进行电泳，方便快捷。

### ■ 产品组成

组分	21502-01 (10 mL)	21502-02 (50 mL)	21502-04 (100 mL)
○ 2 × Magic Green Taq SuperMix	10 × 1 mL	5 × 21502-01	100 × 1 mL

### ■ 保存条件

-20°C 储存，≤ 0°C 运输。

### ■ 实验流程

#### 1. 反应体系

组分	20 μL 体系	50 μL 体系
Template DNA <sup>a</sup>	x μL	x μL
Primer F (10 μM)	1 μL	2.5 μL
Primer R (10 μM)	1 μL	2.5 μL
2 × Magic Green Taq SuperMix	10 μL	25 μL
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 μL	Up to 50 μL

a. 以 50 μL 体系为例，推荐使用的模板量如下表：

模板类型	50 μL 反应体系推荐用量
动植物基因组 DNA	0.1~1 μg
大肠杆菌基因组 DNA	10~100 ng
质粒 DNA	0.1~10 ng
λDNA	0.5~10 ng
cDNA <sup>b</sup>	1~5 μL

b. cDNA 模板加入体积不宜超过 PCR 反应总体积的 1/10。

## 2. 反应程序

Stage	程序	温度	时间	循环数
Stage 1	预变性 <sup>c</sup>	95°C	3 min	1 cycle
		95°C	15 sec	
Stage 2	循环反应 <sup>d</sup>	55~65°C	15 sec	30~35 cycles
		72°C	30 sec/kb	
Stage 3	彻底延伸	72°C	5 min	1 cycle

c. 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将预变性时间延长至 5~10 min 以提高预变性效果；

d. 循环反应中的退火温度需要根据引物的  $T_m$  值进行调整，一般设置成低于引物  $T_m$  值 3~5°C 即可；对于复杂模板，需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增；

e. 延伸时间请根据目的片段长度参考以下方法进行设定：

目的片段长度	建议延伸时间
< 1 kb	10 sec/kb
1 kb - 5 kb	15 sec/kb
5 kb - 10 kb	30 sec/kb

## ■ 注意事项

	无产物或少量产物	有杂带或弥散条带
模板纯度	使用高纯度模板	使用高纯度模板
模板用量	粗提样品可能需要减少使用量；其他样品模板用量参照反应体系推荐量并适量增加	模板用量参照反应体系推荐量调整
延伸时间	适当增加延伸时间	有大于目标条带的杂带时可减少延伸时间
循环数	增加循环数至 35~40 个循环	减少循环数至 25~30 个循环
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度	尝试提高退火温度，可间隔 2°C 设置至 65°C
引物浓度	适当提高引物浓度	降低引物浓度至终浓度为 0.2 $\mu$ M

1. 正向引物和反向引物的  $T_m$  值相差不超过 1°C 为佳， $T_m$  值调整至 55~65°C 为佳(引物额外附加序列，即与模板非配对序列，不应参与引物  $T_m$  值计算)；
2. 引物 3'-端最后一个碱基最好为 G 或者 C；引物 3'-端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；引物 3'-端应避免出现发夹结构；
3. 引物 A、G、C、T 整体分布要尽量均匀，避免使用 GC 或者 AT 含量高的区域；引物的 GC 含量控制在 40%~60% 之间；
4. 避开引物内部或者两条引物之间有 5 个碱基以上的互补序列，两条引物的 3'-端避免有 3 个碱基以上的互补序列；引物设计完毕建议使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。