GenePharma

上海吉玛制药技术有限公司
地址：上海浦东张江高科技园区哈雷路 1011 号 邮编：201203
电话：+86 21 51320195 传真:+86 21 51320295
Email：service@genepharma.com www.genepharma.com

2×NewTimeTM Taq Master Mix with Dye

货　　号：J08002-01　　规格：0.5 ml
J08002-02　　1 ml
J08002-03　　5 ml

保　　存：-20℃

组　　成:

目录编号 / 组 成	J08002-01	J08002-02	J08002-03
2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye	0.5 ml	1 ml	5×1 ml
ddH_2O	1 ml	1 ml	5×1 ml

描　　述：

2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye是一种基于改造的Taq DNA Polymerase优化的两倍浓度的PCR预混合液，Taq DNA Polymerase的行进性得到了大幅度提升，增加了PCR产物的产量，同时对PCR抑制剂的抵抗性大大增加。在PCR增强剂与蛋白稳定剂协同作用下，提高了PCR的扩增效率及灵敏度。

本产品使用方便、简单，使用前保证充分溶解并混匀，使用时只需要取一半PCR体系体积的2×NewTimeTM Taq Master Mix，加入引物、模板，以灭菌水补足体积，使Taq Master Mix终浓度为1×即可，减少了加样误差及PCR操作过程中的污染机会。反应结束后，无需加入上样缓冲液即可直接电泳。

用该2×Taq Master Mix with Dye扩增λ基因组DNA，扩增速率可以达到10 s / kb，扩增效率及产量得到大幅提高。该酶具有5'→ 3'聚合酶活性和5'→ 3'外切酶活性，无3'→ 5'外切酶活性，不含核酸内切酶、核酸外切酶和RNase，PCR产物的3'端带A，可克隆至T载体。

成　　份:

NewTimeTM Taq DNA聚合酶：0.08 U/μl、$MgCl_2$：4 mM、dNTPs：0.4 mM、PCR增强剂、蛋白稳定剂、黄色和蓝色两种指示染料。

操作步骤：

1. 反应体系配制：按表 1 加入相对应试剂：

表 1 PCR 反应成份*

试 剂	20 μl 体系	25 μl 体系	终浓度
2×NewTime™Taq Master Mix with Dye	10 μl	12.5 μl	1×

Primer mix (各10 μM)	1 μl	1 μl	0.4 μM
模板 DNA	1 - 5 μl	1 - 5 μl	根据浓度而定
灭菌纯水补至	20 μl	25 μl	

*进行多个反应之前，根据反应数，配制主混合液，然后分装至 PCR 管中，再加入模板；

2. 盖上管盖，混匀，并瞬时离心；
3. 把 PCR 管放于 PCR 仪上；
4. 按照表 2 参数进行扩增；

表 2 PCR 循环参数

Segment 1	94℃预变性 3 min；
Segment 2 20-30cycles	94℃ 变性 30 s
	56℃ 退火 30 s
	72℃延伸，每 1 kb 约 30 s
Segment 3	72℃延伸 5 min
Segment 4	4℃保存

5. 循环结束后把 PCR 产物置于 4℃保存，如需长期保存，把 PCR 产物置于-20℃至使用；
6. 通过琼脂糖凝胶电泳进行检测。

质量检测控制:

核酸外切酶活性: 25 μl 反应体系中，12.5 μl 2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye 与 500 ng 人细胞基因组 DNA 片段，在 37℃下孵育 1 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化；

RNase 活性: 25 μl 反应体系中，12.5 μl 2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye 与 1 μg 人细胞总 RNA 片段，在 37℃下孵育 1 小时，RNA 的电泳谱带不发生变化；

核酸内切酶活性： 25 μl 反应体系中，12.5 μl 2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye 与 1 μg pUC57 DNA 于 37℃温育 1 小时，经琼脂糖凝胶电泳检测，线性化质粒<10%；

聚合活性分析: 25 μl反应缓冲液中，12.5 μl 2×NewTime™ Taq Master Mix with Dye与25 ng λDNA，0.4 μM引物，20个PCR循环，经凝胶电泳检测可以扩增出特异的958 bp长度的产物。

注：仅限于科研使用，请勿用于动物或人类诊断及治疗

B026-V001F-20140212