

PrimeSTAR® GXL Premix Fast

Code No. R053S

包装量: 1 ml
(for 40 PCR reactions)

Code No. R053A

包装量: 1 ml x 5
(for 200 PCR reactions)

制品说明

PrimeSTAR® GXL Premix Fast是由Takara Bio自主研发的高保真PCR聚合酶, PrimeSTAR GXL DNA Polymerase和PCR反应的组分(Buffer, dNTP等)已配制成2X预混型试剂, 适用于高速PCR反应。

本制品在维持高保真性同时兼具高速反应性, 同时对扩增困难的高GC模板, 不需反应条件优化即可获得很好扩增。

制品中添加了常温下能抑制DNA聚合酶活性和3' -5' 核酸外切酶活性的单克隆抗体, 适用于Hot Start PCR。

保存

-20°C

注意: 试剂的冻融次数应限制在≤20次。
>20次反复冻融可能会影响性能。
使用前轻轻混匀并短暂离心。

PCR反应液组成 (共50 μl)

| | |
|--------------------------------|---------------------|
| PrimeSTAR GXL Premix Fast (2X) | 25 μl(终浓度 1X) |
| 引物 1 | 10 pmol(终浓度 0.2 μM) |
| 引物 2 | 10 pmol(终浓度 0.2 μM) |
| Template | 请参考右侧 (2) 模板 |
| 灭菌水 | up to 50 μl |

PCR反应条件

| | | |
|--------------|---------------|-------------|
| 98°C | 10 sec | } 30 cycles |
| 55 or 60°C*1 | 5 sec | |
| 68°C*2 | 1-10 sec/kb*3 | |
| or | | |
| 98°C | 10 sec | } 30 cycles |
| 68°C*2 | 1-10 sec/kb*3 | |

*1 Tm值为55°C以上时, 退火温度设定为60°C。

Tm值为55°C或以下时, 退火温度设定为55°C。

$Tm \text{ (}^\circ\text{C)} = [(A, T \text{ 总数}) \times 2] + [(C, G \text{ 总数}) \times 4] - 5$

*2 进行3-step PCR反应时, 将延伸温度设定为68°C。

*3 延伸时间设置

扩增产物≤10 kb: 5 sec/kb

扩增产物>10 kb: 10 sec/kb

增加延伸时间可以提高扩增产物的量。

PCR反应条件的选择。

- 扩增产物在10 kb以下时, 请先尝试3-step PCR。
- 扩增产物在10 kb以上或GC rich模板时, 推荐使用2-step PCR, 可提高反应特异性。

参数优化

为了发挥 PrimeSTAR GXL Premix Fast 的最大性能、获得良好的 PCR 扩增结果, 有必要按照适宜参数进行设定。

(1) Primer 的设计

引物最好利用专业引物设计软件进行设计。

【扩增产物≤10 kb 时】

一般引物长度为 20-25 mer 即可获得良好的扩增, 当引物的 Tm 值在 55°C 以上, 或引物长度在 25 mer 以上, 可进一步提高 PCR 反应的成功率。

【扩增产物>10 kb 时】

建议引物 Tm 值在 65°C 以上, 引物长度为 25-35 mer, 设计引物时, 3' 端的 GC 含量不要过高。

【靶基因 GC rich 时】

建议引物的 Tm 值在 60°C 以上。

Note: 使用 PrimeSTAR GXL Premix Fast 时, 避免使用含次黄嘌呤核苷碱基 (Inosine) 的引物。

(2) 模板

建议使用的模板量如下(50 μl 反应体系):

| | | |
|-------------|---------------|--------------|
| 人基因组 DNA | 5~500 ng | (扩增大片段时) |
| 大肠杆菌基因组 DNA | 100 pg~200 ng | (100~500 ng) |
| Plasmid DNA | 10 pg~10 ng | (10~200 ng) |
| | | (1~10 ng) |
| cDNA | 25~750 ng | (250~750 ng) |

Note: 亚硫酸氢盐处理后的含有尿嘧啶的 DNA 为模板时不能使用本制品。

扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

使用 PrimeSTAR GXL Premix Fast 扩增的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳时, 建议使用 TAE buffer。使用 TBE buffer 会导致电泳带在凝胶底部扩散, 不能获得清晰的、良好的电泳结果。

扩增产物的克隆

使用 PrimeSTAR GXL Premix Fast 扩增的 PCR 产物大部分都为平滑末端, 不能直接用于 TA 克隆。推荐使用 In-Fusion 克隆或者平末端载体进行克隆。推荐使用 In-Fusion® Snap Assembly Master Mix 系列(Code No. 638947/638948/638949/638943/638944/638954/638955/638956)进行 In-Fusion 克隆。平滑末端载体进行克隆可以使用 Mighty Cloning Reagent Set (Blunt End) (Code No. 6027)。如果想克隆到 T 载体上, 则需要对 3' 末端进行 dA 加尾反应。

限制酶处理时

对扩增产物进行限制酶处理时, 先进行苯酚/氯仿处理或使用 NucleoSpin Gel and PCR Clean-Up (Code No. 740609.10 / .50 / .250) 等除去蛋白质。特别是使用 3' -末端突出的限制酶时 (例如 *Pst* I 等), 由于 PrimeSTAR GXL Premix Fast 具有 3' → 5' 外切酶活性, 如果该活性残留, 在限制酶处理中会将 3' -突出末端切掉。

相关产品

PrimeSTAR® GXL Premix Fast, Dye plus (Code No. R052S/A/B)*

*PrimeSTAR GXL Premix Fast, Dye plus 含有电泳时所必需的色素试剂 (绿色: 蓝色和黄色混合色素) 和比重试剂, PCR 反应后可以直接进行电泳。

PrimeSTAR is a registered trademark of Takara Bio Inc.

In-Fusion is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202401Da