



## 2×GoldStar Best MasterMix (Dye)

目录号：CW0655M (5 ml)

**保存条件：**-20℃。如需频繁使用，可存放于2-8℃。

### 产品内容

Component	CW0655M
	5 ml
2×GoldStar Best MasterMix (Dye)	5×1 ml
ddH <sub>2</sub> O	5×1 ml

注意：2×GoldStar Best MasterMix含有GoldStar Best DNA Polymerase, 3.4 mM MgCl<sub>2</sub>和 400 μM each dNTP。

### 产品简介

本品为由GoldStar Best DNA Polymerase、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂组成的预混体系，浓度为2×，具有操作简便快速、灵敏度高、特异性强、稳定性好的优点，可最大限度地减少人为误差和污染。该产品所含的GoldStar Best DNA Polymerase是经过化学修饰的热启动高保真聚合酶。该聚合酶具有5'-3'DNA聚合酶活性，5'-3'外切酶活性和3'-5'外切酶活性，在普通PCR条件下，与GoldStar Taq DNA Polymerase相比，具有扩增效率高、错配率低的优良性能。化学修饰后的酶在常温下没有聚合酶活性，有效避免在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增，酶的激活须在95℃下孵育10分钟，该条件可以整合入已有的PCR热循环程序。优化的缓冲体系使酶的作用发挥最大功效，实现对目的片段的高保真、高特异性、高扩增效率、高灵敏度扩增。本产品已加入染料（蓝色），反应结束后可直接进行电泳检测。扩增得到的大部分PCR产物3'端附有一个“A”碱基，因此可直接用于T/A克隆。适用于常规的PCR反应和对高保真性有要求的基因克隆等实验。

### 质量控制

经检验无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余DNA；能有效地扩增多种基因组中的单拷贝基因；2-8℃存放三个月，活性无明显改变。

## 使用方法

以下举例为以人基因组DNA为模板，扩增1 kb的片段的PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

### 1. PCR反应体系

试剂	50 $\mu$ l反应体系	终浓度
2 $\times$ GoldStar Best MasterMix (Dye)	25 $\mu$ l	1 $\times$
Forward Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Template DNA	<0.5 $\mu$ g	<0.5 $\mu$ g/50 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l	

注意：引物浓度请以终浓度0.1-1.0  $\mu$ M作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

### 2. PCR反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	95 $^{\circ}$ C	10 min	
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s	} 30-40 个循环
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	60 s	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的溶解温度 $T_m$ 低5 $^{\circ}$ C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，本产品中所包含的GoldStar Best DNA Polymerase的扩增效率为1-2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配几率会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。
- 4) 本产品须在预变性95 $^{\circ}$ C，10 min条件下实现酶的活化。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途