

BrightFISH® Taq DNA聚合酶

使用说明书 (Ver.1.1.1)

产品说明

- ◇ 收到本产品后，请立即保存于-20°C恒温冰箱。
- ◇ 本品采用化学修饰技术制备而成，用于高灵敏度、高特异性定量PCR扩增，也适用于普通PCR和TA克隆，尤其适用于亚硫酸盐转化后的DNA扩增。

产品货号：

JSR-E-201 (50次反应) JSR-E-202 (200次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

产品组份

试剂盒组成	保存	50次	200次
5 × PCR Buffer	-20°C	600μl	600μl × 4
MgCl ₂ (25 mM)	-20°C	400μl	1.5ml
dNTP mix (10mM)	-20°C	50μl	200μl
BrightFISH® Taq DNA聚合酶	-20°C	30μl	120μl
无DNase/RNase水	室温	2 × 1ml	5 × 1ml

注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

操作步骤

BrightFISH® Taq DNA聚合酶需经过95°C 10分钟的热启动步骤。该产品经过化学修饰，使其在室温条件下不会发生非特异性扩增，因此实验准备过程无需将PCR反应管置于冰浴中操作。每次实验应设置一组无模板DNA的空白对照(NTC)。

1. 根据PCR所需准备相关试剂，并务必保证以上试剂使用前充分混合均匀，避免浓度局部差异。
2. 根据表1制备反应混合液。通用的反应混合液一般包括除模板DNA外的所有的PCR必需成分。请根据每次PCR反应数量的实际需要量额外多制备10%的余量。

表1.PCR反应体系

组份	添加量	终浓度
5 ×PCR Buffer	10μl	1 ×
MgCl ₂ (25mM)	3-6μl	1.5-3.0mM
dNTP mix (10mM)	1μl	200μM
BrightFISH® Taq DNA 聚合酶	0.5μl	2.5units
Forward Primer	Variable	0.1 –0.5μM
Reverse Primer	Variable	0.1 –0.5μM
Template DNA	Variable	≤1μg

无DNase/RNase水	Variable	
Total reaction volume	50 μ l	

- 轻柔振荡反应混合液充分混合均匀，可用移液器反复多次吸吹。根据每个PCR反应体积，分别量取所需量分装至各PCR反应管。
- 在装有反应混合液各PCR反应管中，加入模板DNA ($\leq 1\mu\text{g}/\text{reaction}$)。若进行RT-PCR，加入逆转录反应产物。
- 根据不同制造商、不同型号PCR仪的具体使用说明，编写循环加热程序。一般性通用的循环加热程序可参考表2。如需最大限度提高产率和特异性，建议根据具体使用的不同模板和引物，对PCR程序中的温度和循环次数进行进一步优化。注意：每一个PCR程序务必从95 $^{\circ}\text{C}$ 10分钟热启动步骤开始。
- 把PCR反应管置于PCR仪中，启动循环加热程序。

注意：扩增结束后，样品可在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置过夜或者-20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置更长时间。

表2. 普通PCR循环参数

步骤	时间	温度	说明
热启动	10分钟	95 $^{\circ}\text{C}$	激活 BrightFISH [®] Taq DNA聚合酶
3步循环变性	0.5-1分钟	94 $^{\circ}\text{C}$	
退火	0.5-1分钟	50-68 $^{\circ}\text{C}$	退火温度大约为引物Tm-5 $^{\circ}\text{C}$ ，可根据实际需要进行调整。
延伸	1分钟	72 $^{\circ}\text{C}$	PCR产物大于1kb时，延伸时间大约为1分钟/1kb DNA
循环次数	40-45循环		
最终延伸	10分钟	72 $^{\circ}\text{C}$	

探针法qPCR循环参数

步骤	时间	温度	说明
热启动	10分钟	95 $^{\circ}\text{C}$	激活 BrightFISH [®] Taq DNA聚合酶
3步循环变性	15-30秒	95 $^{\circ}\text{C}$	
退火/延伸	30秒	60 $^{\circ}\text{C}$	退火温度可根据实际需要进行调整。
循环次数	45-50循环		