

## PCR 产品选择指南

PCR (Polymerase Chain Reaction) 反应是上世纪 80 年代中期发展起来的体外核酸扩增技术。其基本原理是酶促 DNA 合成反应，即在模板 DNA、引物和脱氧核糖核酸存在下，在耐热 DNA 聚合酶的作用下，经过 DNA 链热变性、引物退火和引物延伸三个步骤，循环往复，使 DNA 片段在短时间内迅速扩增。它具有特异、灵敏、产率高、快速、简便、重复性好、易自动化等突出优点，使它在分子生物学和医学领域迅速得到了广泛的实际应用，被许多科学家视为近十几年来分子生物学领域重要的一项技术突破。

PCR 反应经常用于基因克隆、基因突变、测序、基因检测、探针标记等。进行 PCR 反应时，应根据不同要求选择不同聚合酶、不同的反应缓冲体系并适当调整 PCR 反应条件（如 PCR 反应温度、时间和循环次数等）。如果选择不当，会造成 PCR 反应结果较差甚至完全失败。

为了确保得到理想的实验结果，TIANGEN 的研发人员针对客户的不同需求，精心配制了各种系列的 PCR 产品供您选择，为您的实验工作顺利进行提供保障。

### 耐热 DNA 聚合酶

- 多种不同的耐热 DNA 聚合酶可供选择。
- 满足您在保真度、扩增效率、扩增长度和扩增特异性 4 个方面的不同要求。
- 适合于各种来源的 DNA 模板、扩增不同长度的 DNA 片段、方便开展顺畅的后续实验。

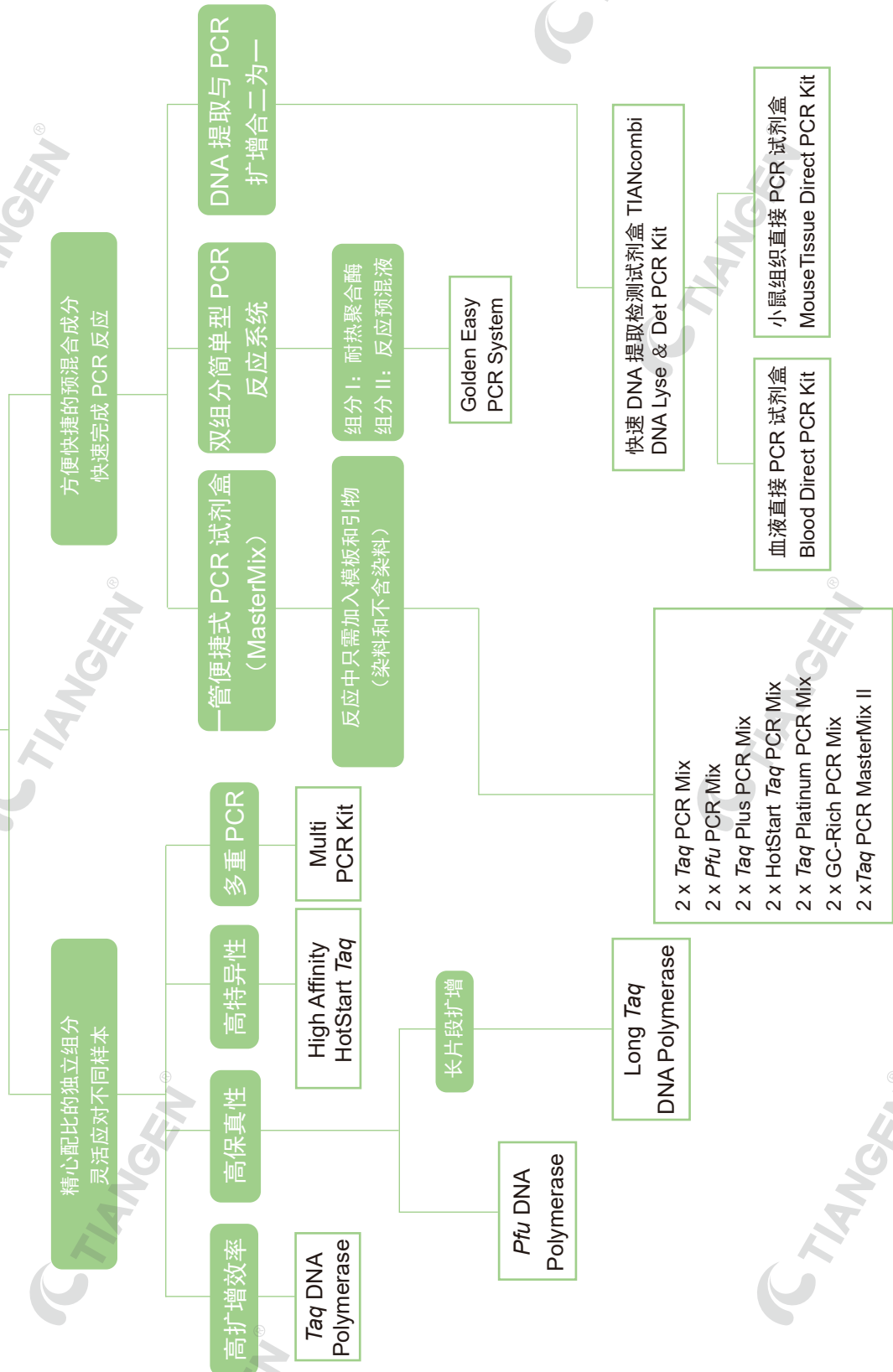
### 一管便捷式 PCR 反应体系 (PCR Mix) 国家高新技术产品认证

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度，还能有效扩增 GC 含量高、具有二级结构的复杂模板。可扩增低至 2 个拷贝的目的模板，使实验结果更加精确。
- 独特的 Mix 配方使整个反应体系非常稳定，即使多次冻融或短期放于 2~8℃ 亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便，大大降低劳动强度和取样误差，而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂，降低了对 PCR 条件的要求。
- 备有多种 Mix，每种分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳，无需加入上样缓冲液。

### 双组分简单型 PCR 反应系统 (Golden PCR System)

- 该系统包括：组分 I，耐热聚合酶；组分 II，PCR 反应必需成分的预混液。
- 使用方法简单快捷：只需将两种组分按比例混合后加入模板和引物即可，省去了一一加入各种 PCR 反应组分的烦恼，节省您宝贵的时间。
- 准确高效的扩增效率，适用于各种常规 PCR 反应、复杂模板如 GC 含量高 (> 60%)、有二级结构等模板的扩增和大规模基因检测。
- 反应系统中含有染料，让你的 PCR 和电泳步骤无时间间隔，快速省力。

PCR 酶选择指南



不同 PCR 产品扩增性能及应用建议

Phi DNA Polymerase  
Taq DNA Polymerase  
Long Taq DNA Polymerase  
Taq Platinum DNA Polymerase  
Taq Plus DNA Polymerase  
HotMaster Taq DNA Polymerase  
High Affinity HotStart Taq  
Multi PCR Kit  
2 × Pfu PCR Mix  
2 × Taq Plus PCR Mix  
2 × GC-Rich PCR Mix  
2 × Taq PCR MasterMix II

	EP101	ET101	ET103	ET104	ET105	ET106	ET108	KT109	KP201	KT205	KT206	KT211
扩增片段长度范围	< 4 kb	< 4 kb	< 20 kb	< 6 kb	< 10 kb	< 4 kb	< 4 kb	< 4 kb	< 4 kb	< 10 kb	< 10 kb	< 4 kb
保真性	10×Taq	1×Taq	3×Taq	5×Taq	5×Taq	1×Taq	1×Taq	1×Taq	10×Taq	5×Taq	5×Taq	1×Taq
高GC扩增	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++++	++++
3'加A*	-	+	±	±	±	±	+	+	-	±	±	+
产品形式	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	单酶与buffer分开	预混Mix	预混Mix	预混Mix	预混Mix
应用建议	适合普通模板短片段高保真PCR	适合保真性要求高的普通模板短片段PCR	适合长片段及一些复杂模板PCR (如含二级结构、富含GC序列和重复序列等)	适合普通模板的短片段高保真PCR	适合普通模板的长片段高保真PCR	配体修饰热启动酶；可作为检测试剂	抗体修饰热启动酶；可作为定量PCR酶原料	化学修饰热启动酶；可作为多重PCR；高特异性PCR检测；低拷贝模板PCR	适合普通模板的短片段高保真PCR	适合普通模板的长片段高保真PCR	适合高GC、复杂模板的长片段高保真PCR	适合各种类型模板 (包括高GC、复杂模板) 非保真性PCR;也可用于菌落PCR鉴定

+ 产物可直接用于TA克隆  
- 产物不可直接用于TA克隆, 需要加A反应 (RT124) 后再进行TA克隆; 可直接用于无缝克隆  
± 产物可直接用于TA克隆, 但建议进行加A反应 (RT124) 以提高克隆效率; 不建议用于无缝克隆

## 耐热 DNA 聚合酶简介

合理选择耐热 DNA 聚合酶是 PCR 成败与否的一个关键因素。如何选择合适的耐热 DNA 聚合酶，是用户首先考虑的问题。目前市面上有许多种耐热 DNA 聚合酶，名称各不相同，主要区别在于特异性、保真性、耐热性、扩增速率、扩增片段长度等几个指标。

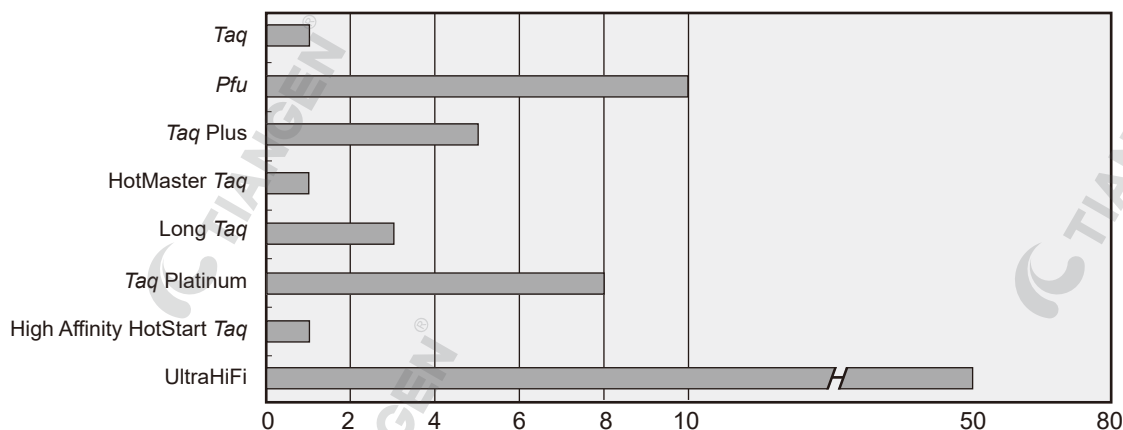
TIANGEN 公司生产的多种耐热 DNA 聚合酶全部采用国外生产工艺和质量检测标准，是经过多次分子筛、离子交换层析柱纯化的超纯型产品，去除宿主 DNA 和蛋白酶等因素的影响，特异性非常好且特别稳定，经检测，室温放置 1 个月，活性不发生改变。

### 不同耐热 DNA 聚合酶比较

<i>Taq</i>	扩增效率高的耐热 DNA 聚合酶，能很好地扩增 6 kb 以下的 DNA 片段。
<i>Pfu</i>	目前使用广泛的耐热 DNA 聚合酶，但扩增效率低于 <i>Taq</i> 酶，能很好的扩增 2 kb 以下的片段。一般用于点突变、基因筛选等对保真性要求很高的 DNA 扩增。
<i>Taq Plus</i>	集扩增效率高和保真度于一体。能有效地扩增 10 kb 以下的片段，扩增效率比 <i>Pfu</i> 高，保真度比 <i>Taq</i> 好。对于有些结构复杂的模板，如 GC 含量高、有二级结构等可选用 <i>Taq Plus</i> 扩增。
HotMaster <i>Taq</i>	采用了创新的合成亲和性配体技术，该配体可以以一种温度依赖性的方式来可逆性地阻断酶的活性。能最大限度的减少 PCR 扩增全程中的非特异性扩增产物产生，大大提高了 PCR 反应的特异性。能很好地扩增 6 kb 以下的 DNA 片段，PCR 产物 3' 端为 A，可直接用 TA 载体克隆。
Long <i>Taq</i>	具有 3' -5' 外切酶活性的耐热 DNA 聚合酶，它不但扩增效率高而且错配率低，对简单模板可扩增长达 40 kb 的片段，对复杂模板也可扩增长达 15 kb 的片段，特别适合于长片段扩增，如构建基因图谱及分子遗传学研究等。
<i>Taq Platinum</i>	热启动高保真耐热 DNA 聚合酶。保真度略低于 <i>Pfu</i> 聚合酶，但扩增效率比 <i>Pfu</i> 要高，如果对保真度要求很高，而用 <i>Pfu</i> 扩增有难度，可选用 <i>Taq Platinum</i> 聚合酶。一般扩增长度可达 4 kb。
High Affinity HotStart <i>Taq</i>	特异性抗体修饰的热启动型 DNA 聚合酶，抗体亲和力高，具有高特异性、较高的模板亲和力和稳定的扩增效率。不仅适合于普通 PCR，还适合于多重 PCR 和荧光定量 PCR。普通 PCR 扩增长度可达 6 kb。
UltraHiFi	通过定向分子进化技术开发得到的新型快速高保真 DNA 聚合酶，对 DNA 模板具有超强的亲和力，模板延伸能力可达 20 kb，具有超强的 3'-5' 外切酶活性，保真性约为普通 <i>Taq</i> DNA Polymerase 的 50 倍*。适可扩增 GC 含量高达 75% 的复杂模板。

\* 升级版 UltraHiFi: 酶其保真性会有所提高

### 耐热 DNA 聚合酶的保真性能比较



★如果将 *Taq* 的保真度定为 1，*Pfu* 的保真度为 10，其它酶的保真度如图所示。

## PCR 条件对反应的影响

### 变性温度与时间

模板变性温度是决定 PCR 反应中双链 DNA 解链的温度，达不到变性温度就不会产生单链 DNA 模板，PCR 也就不会启动。变性温度低则变性不完全，DNA 双链会很快复性，因而减少产量。变性温度太高，又会影响酶的活性。一般情况下可设为 94°C 温浴 20-30 sec，高温时间应尽量缩短，以保持耐热 DNA 聚合酶的活力，最高变性温度不宜超过 95°C。

### 退火温度与时间

退火温度决定 PCR 特异性与产量。温度高特异性强，但过高则引物不能与模板牢固结合，DNA 扩增效率下降；温度低产量高，但过低可造成引物与模板错配，非特异性产物增加。合适的退火温度一般在 45-68°C 之间。设置特定反应的最适退火温度，可根据引物的 (G+C) % 含量进行推测，一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度  $T_m$  低 5°C，退火时间一般为 30-60 sec，足以使引物与模板之间完全结合，长时间退火没有必要。

### 延伸温度与时间

PCR 反应的延伸温度一般选择在 70-75°C 之间，延伸时间根据所用聚合酶扩增速度和扩增片段大小设定，如同样扩增 1 kb 片段，若使用 *Taq* 酶只需 1 min，使用 *Pfu* 酶则应设定 2 min 以上。延伸时间过长会导致非特异性扩增带的出现，时间太短则可能得不到扩增产物或得到一些短的非特异性片段。

### 循环次数

可根据模板 DNA 的量、扩增片段的大小和扩增产物的下步应用等因素，设定 30-40 个循环。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，在保证产物得率前提下，应尽量减少循环次数。

### 酶量

50  $\mu$ l 反应体系可用 0.5-5 U 酶，酶量的选择与模板 DNA 的量、扩增片段大小等有关，酶量过多易发生非特异性反应，而且可能增加突变的机率，尤其在進行高保真扩增时，应尽量减少酶量，但酶量过少时反应性能会下降。

### 模板

模板可以是单链 DNA，也可以是双链 DNA，质粒 DNA 的扩增效率略低于线状 DNA。模板加量一般不需太多，不超过 1  $\mu$ g 为宜，因为模板量过多可能导致非特异性扩增增加，但是要考慮模板中靶序列的含量。例如，使用基因组为模板扩增单拷贝或低拷贝靶序列，就需要适当加大模板用量。

### 引物

引物与模板配对的长度应至少为 17 个核苷酸，最高不宜超过 30 个核苷酸，最佳长度为 20-24 个核苷酸，如需插入酶切位点，应在酶切位点 5' 端多加几个碱基，有利于酶切。引物的 (G+C) % 含量组成应均匀，尽量避免含有相同的碱基多聚体。两个引物中 (G+C) % 含量应尽量相似。引物内部应避免形成明显的二级结构，如发夹结构。两个引物之间不应发生互补，特别是在引物 3' 端。如果可能，引物 3' 端最好富有 GC，这样退火后有利于引物 3' 端的延伸。人工合成的引物需经过色谱层析或 PAGE 纯化，以除去未能合成至全长的短链等杂质。引物的终浓度一般为 0.1-1  $\mu$ M 左右，浓度太高会导致非特异性扩增，太低则扩增产物太少。

### 反应缓冲液

缓冲液的 pH 值、盐离子浓度、助溶剂成分等都会对 PCR 反应产生影响。TIANGEN 公司提供的 *Taq* 酶通用缓冲液 pH 值为 8.4， $Mg^{2+}$  浓度为 1.5 mM，可以适用于大多数 PCR 反应，但它并非对任何模板和引物的组合都是最佳的，我们还备有成分不同的另外两种常规缓冲液及一种优化缓冲液，可适用于不同 PCR 反应条件，如果使用通用缓冲液不能得到满意结果，建议使用优化试剂盒建立适宜的反应条件。



# Taq DNA 聚合酶 / 预混试剂

## Taq DNA polymerase/PCR Mix

——超纯高效耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
ET101-01-01	Taq DNA Polymerase	250 U, 2.5 U/μl	95 元
ET101-02-01	Taq DNA Polymerase (含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10× Taq Buffer)	500 U, 2.5 U/μl	175 元
ET101-02-03	Taq DNA Polymerase	500 U, 5 U/μl	175 元
ET101-02-02	Taq DNA Polymerase (含 10× Taq Buffer, Mg <sup>2+</sup> Free)	500 U, 2.5 U/μl	175 元
ET101-02-04	Taq DNA Polymerase (含 10× Taq Buffer, Mg <sup>2+</sup> Free)	500 U, 5 U/μl	175 元
KT201-01	2× Taq PCR Mix	1 ml	150 元
KT201-02	(含染料)	5×1 ml	600 元
KT201-12	2× Taq PCR Mix (不含染料)	5×1 ml	600 元

### 产品内容

#### 10 x Taq Buffer

100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>  
200 mM Tris-HCl (pH9.0)  
200 mM KCl  
15 mM MgCl<sub>2</sub>  
其它

#### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0)  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
100 mM KCl  
50% Glycerol  
Stabilizers

#### 保存条件

ET101:-30~-15°C 保存

KT201:-30~-15°C 保存, 避免反复冻融。

### 活性定义

1 单位 (U) Taq DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物, 将 10<sup>6</sup> nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

#### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标; 经检测无外源核酸酶活性; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温 (15~30°C) 存放一周, 无明显活性改变。

#### 主要技术参数

该酶具 5'-3' 聚合酶的活性以及 5'-3' 外切核酸酶活性, 无 3'-5' 外切酶活性。在 70-75°C 时, DNA 聚合的延伸速度为 1-2 kb/min。PCR 产物 3' 端为 A, 可直接用 TA 载体克隆。

#### 适用范围

一般用于 < 4 kb 的对保真度要求不高的 DNA 产物的扩增、引物延伸、序列测定, DNA 平末端加 A 等。

### 反应举例

以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段

Template	<1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10× Taq Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Taq (2.5 U/μl)	0.5-1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94°C 3 min	30 Cycles
94°C 30 sec	
55°C 30 sec	
72°C 1 min	
72°C 5 min	

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果

## 产品说明

### Taq DNA Polymerase

Taq DNA Polymerase 是从克隆有 *Thermus aquaticus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌经诱导表达后，再经三次过柱纯化分离出来的一个约 94 kDa 的重组蛋白。无外源核酸酶和细菌 DNA 污染，稳定性好，特异性强，适用于常规 PCR 扩增。

### 一管便捷式 Taq PCR Mix (国家高新技术产品认证)

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度，还能有效扩增 GC 含量高、二级结构等复杂模板。可扩增 2 个拷贝的模板，使实验结果更加精确。
- 独创的 Taq PCR Mix 配方使整个反应体系非常稳定，多次冻融或长期放于 2-8°C 亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便，大大降低劳动强度和取样误差，而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂，降低了对 PCR 条件的要求。
- 分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 PCR Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳，无需加入上样缓冲液。

### 双组分简单型 PCR 反应系统 (Golden PCR System)

- 该系统包括：组分 I，耐热聚合酶；组分 II，PCR 反应必需成分的预混液。
- 使用方法简单快捷：只需将两种组分按比例混合后加入模板和引物即可，省去了一一加入各种 PCR 反应组分的烦恼，节省您宝贵的时间。
- 准确高效的扩增效率，适用于各种常规 PCR 反应、复杂模板如 GC 含量高 (> 60%)，有二级结构等模板的扩增和大规模基因检测。
- 反应系统中含有染料，让你的 PCR 和电泳步骤无时间间隔，快速省力。

## 常见问题

### Q: 使用 Taq 酶扩增的 PCR 产物如何进行 TA 连接?

A: 使用 Taq 酶的 PCR 扩增产物在 3' 端有一个附加的 A 碱基，可进行 TA 连接。TIANGEN 公司的 Taq 酶反应缓冲液中没有抑制连接反应的成分，PCR 产物如果没有非特异性杂带，不需进行纯化，可直接用于连接。但鉴于 PCR 产物中多数会有引物二聚体存在，建议纯化后再进行连接。

### Q: PCR 产物经末端平滑后克隆于去磷酸的平滑末端载体时，其 PCR 产物需不需要进行 5' 末端磷酸化?

A: 需要。一般的 PCR 用引物 5' 末端都不带磷（除非在合成时特别标记）。使用这种引物进行 PCR 的产物经末端平滑化后，与去磷酸的平滑末端载体连接之前，必须进行末端磷酸化。

# Pfu DNA 聚合酶 / 预混试剂

## Pfu DNA Polymerase/PCR Mix

——超纯高保真耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
EP101-02	Pfu DNA Polymerase (含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10×Pfu Buffer)	500 U, 2.5 U/μl	280 元
KP201-02	2 × Pfu PCR Mix (含染料)	5 × 1 ml	850 元
KP201-12	2 × Pfu PCR Mix (不含染料)	5 × 1 ml	850 元

### 产品内容

#### 10 × Pfu Buffer

200 mM Tris-HCl (pH8.8)  
100 mM KCl  
100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
20 mM MgSO<sub>4</sub>  
其它

#### 酶贮存缓冲液

50 mM Tris-HCl (pH8.2)  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
50% Glycerol  
Stabilizers

### 保存条件

EP101:-30~-15℃ 保存

KP201:-30~-15℃ 保存, 避免反复冻融

### 活性定义

1 单位 (U) Pfu DNA Polymerase 活力定义为在 74℃、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温 (15~30℃) 存放一周, 无明显活性改变。

### 主要技术参数

有 3'-5' 外切核酸酶活性, 无 5'-3' 外切核酸酶活性, DNA 扩增时延伸速度低于 Taq 酶, 一般情况下 Pfu 酶的延伸速度为每分钟 0.5-1 kb。Pfu 酶的热稳定性比 Taq 酶好, 对于 GC 含量很高的模板, 变性温度可以提高到 98℃, 对 Pfu 酶的活性无影响。其 PCR 产物为平端, 可加 A 处理再与 TA 载体连接或使用平末端克隆载体。

### 适用范围

用于 DNA 的高保真扩增, 如基因表达克隆、基因定点突变、细胞内基因点突变的分析 (SNP) 和末端补平等。

### 反应举例

以基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段

Template	< 1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10×Pfu Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Pfu (2.5 U/μl)	0.5-1μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94℃ 3 min	30 Cycles
94℃ 30 sec	
55℃ 30 sec	
72℃ 2 min	
72℃ 5 min	

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果



## 产品说明

### *Pfu* DNA Polymerase

*Pfu* DNA Polymerase 是从克隆有 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中表达并经多次过柱纯化分离出来的。由于 *Pfu* 有 3'-5' 的外切酶活性，它能纠正 DNA 扩增过程中产生的错误，而传统的 *Taq* DNA Polymerase 却不能。其它高温 DNA Polymerase 如：Vent, Deep Vent, Tli, UITma 等虽具有校正功能，但 *Pfu* 是目前已发现的所有耐高温 DNA Polymerase 中出错率较低的。*Pfu* DNA 聚合酶比普通 *Taq* DNA 聚合酶热稳定性更好，95°C 条件下 1 h 仍保持 90% 以上活性。

#### —管便捷式 *Pfu* PCR Mix (国家高新技术产品认证)

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度，还能有效扩增 GC 含量高、二级结构等复杂模板。可扩增低至 2 个拷贝的目的模板，使实验结果更加精确。
- 独创的 *Pfu* PCR Mix 配方使整个反应体系非常稳定，多次冻融或长期放于 2~8°C 亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便，大大降低劳动强度和取样误差，而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂，降低了对 PCR 条件的要求。
- 分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 PCR Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳，无需加入上样缓冲液。

## 常见问题

### Q: 使用 *Pfu* 可以扩增多长的片段？

A: 对于简单模板，*Pfu* 应该可以很好地扩增 3 kb 以下片段。扩增更长片段时，能否成功扩增主要与模板和引物的设计有关。如果对保真度要求很高，而用 *Pfu* DNA 聚合酶有困难时，可选用 TIANGEN 公司的 *Taq* Platinum 聚合酶替代。

### Q: 使用 *Pfu* 进行 PCR 扩增后的 PCR 产物能否进行 TA 克隆？

A: 不可以直接进行 TA 克隆，只可选用平末端加 A 后再与 TA 载体连接。

### Q: 用同等单位的 *Pfu* 和 *Taq* 扩增，为什么 *Pfu* 扩增效率比 *Taq* 酶低？

A: 因为高保真性能的 *Pfu* 聚合酶具有 3'-5' 核酸外切酶的活性，扩增中如果产生了错配的碱基，它可以将其切掉，从而保证了扩增的准确性。正是由于此酶具有核酸外切酶功能，往往扩增效率比 *Taq* 要低，而且还容易降解引物，因而在设置 PCR 反应时，应最后加入 *Pfu* 酶为好。

### Q: 用 *Pfu* 酶扩增时，对引物设计有何要求？

A: 用 *Pfu* 酶扩增时，引物的纯度要求较高，引物长度大于 18 个碱基， $T_m$  在 55-80°C 之间，引物浓度在 0.1-0.5  $\mu\text{M}$  之间，比 *Taq* 酶略高。

# Taq Plus DNA 聚合酶 / 预混试剂

## Taq Plus DNA Polymerase/PCR Mix

— 超纯高效率、高保真耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
ET105-01	Taq Plus DNA Polymerase	250 U, 2.5 U/μl	120 元
ET105-02	(含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10× Taq Plus Buffer)	500 U, 2.5 U/μl	220 元
KT205-02	2× Taq Plus PCR Mix (含染料)	5×1 ml	850 元
KT205-12	2× Taq Plus PCR Mix (不含染料)	5×1 ml	850 元

### 产品内容

10 x Taq Plus Buffer  
200 mM Tris-HCl (pH9.0)  
200 mM KCl  
100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
15 mM MgCl<sub>2</sub>  
其它

### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0)  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
100 mM KCl  
50% Glycerol  
Stabilizers

### 保存条件

ET105:-30~-15°C 保存

KT205:-30~-15°C 保存, 避免反复冻融

### 活性定义

1 单位 (U) Taq Plus DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温 (15~30°C) 存放一周, 无明显活性改变。

### 主要技术参数

有 5'-3' 外切核酸酶活性和 3'-5' 外切酶活性。PCR 产物可直接进行 TA 载体克隆, 如需提高克隆效率, 建议先纯化, 加 A 后再进行 TA 载体克隆。

### 适用范围

常用于一些保真度高, 结构复杂的模板如 GC 含量高, 有二级结构等扩增, 大多数情况下可替代 Taq DNA 聚合酶。

### 反应举例

以基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段

Template	< 1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10× Taq Plus Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Taq Plus (2.5 U/μl)	0.5-1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94°C 3 min	} 30 Cycles
94°C 30 sec	
55°C 30 sec	
72°C 1 min	
72°C 5 min	

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果

## 产品说明

### Taq Plus DNA Polymerase

Taq Plus DNA Polymerase 是 Taq 和 Pfu DNA 聚合酶的混合物，有 5'-3' 外切酶活性和 3'-5' 外切酶活性，具备扩增效率高，错配率低的特点。与 Taq DNA 聚合酶相比，Taq Plus DNA 聚合酶具有扩增长度增加（简单模板可有效扩增长达 20 kb，对复杂模板也可达 10 kb）、保真度好等优点；与 Pfu DNA 聚合酶比较，具有扩增速度快，反应效率高的优势。

#### —管便捷式 Taq Plus PCR Mix (国家高新技术产品认证)

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度，还能有效扩增 GC 含量高、二级结构等复杂模板。可扩增低至 2 个拷贝的目的模板，使实验结果更加精确。
- 独创的 Taq Plus PCR Mix 配方使整个反应体系非常的稳定，多次冻融或长期放于 2-8℃ 亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便，大大降低劳动强度和取样误差，而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂，降低了对 PCR 条件的要求。
- 分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 PCR Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳，无需加入上样缓冲液。

## 常见问题

**Q: 使用 Taq Plus 可以扩增多长的片段？**

**A:** 一般情况下，Taq Plus 应该可以很好地扩增 10 kb 以下片段。能否成功扩增更长片段，主要与模板的结构和引物的设计有关，如果扩增长片段有困难，推荐选用 Long Taq DNA 聚合酶。

**Q: 使用 Taq Plus 进行 PCR 扩增后的 PCR 产物能否进行 TA 克隆？**

**A:** PCR 产物可直接进行 TA 载体克隆，但效率可能会略低于 Taq，建议最好先将 PCR 产物进行纯化，然后经过加 A 处理，再与 T 载体连接，这样可大大提高克隆效率。

# HotMaster Taq DNA 聚合酶

## HotMaster Taq DNA Polymerase

——超纯特异性超强的耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
ET106-01	HotMaster Taq DNA Polymerase	250 U, 2.5 U/μl	300 元
ET106-02	(含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10×HotMaster Taq Buffer)	500 U, 2.5 U/μl	580 元

### 产品内容

10 x HotMaster Taq Buffer  
200 mM Tris-HCl (pH8.4)  
200 mM KCl  
100 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
25 mM MgCl<sub>2</sub>  
其它

### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0)  
0.1mM EDTA  
1 mM DTT  
100 mM KCl  
50% Glycerol  
Stabilizers

### 保存条件

-30~-15°C 保存

### 活性定义

1 单位 (U) HotMaster Taq DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温 (15~30°C) 存放一周, 无明显活性改变。

### 主要技术参数

有 5'-3' 外切核酸酶活性, 无 3'-5' 外切酶活性, 同时具有更强的特异性。PCR 产物 3' 端为 A, 可直接用 TA 载体克隆。

### 适用范围

一般用于高灵敏度和有较强背景的基因组扩增 (如基因组中某个特定基因位点或外源病原体的检测)、DNA 序列测定、MultiPlex PCR、TA 克隆等。

### 反应举例

以基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段

Template	< 1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10× HotMaster Taq Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
HotMaster Taq (2.5 U/μl)	0.5-1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94°C 3 min	30 Cycles
94°C 30 sec	
55°C 30 sec	
65°C 1 min	
65°C 5 min	

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果

### 产品说明

HotMaster Taq DNA Polymerase

HotMaster Taq DNA Polymerase 采用了创新的合成亲和性配体技术, 该配体可以以一种温度依赖性的方式来可逆性地阻断酶的活性。能大限度的减少 PCR 扩增全程中的非特异性扩增产物产生, 大大提高了 PCR 反应的特异性。PCR 产物 3' 端为 A, 可直接用 TA 载体克隆。

影响 PCR 特异性的因素很多, 包括模板、引物性质及质量、反应条件的控制等等, 而高特异性 Taq 酶的出现大大减少了摸条件这一繁琐的实验过程, 也为 PCR 产物快速有效的纯化 (如用 DNA 产物纯化试剂盒) 打下了基础。

# Long Taq DNA 聚合酶

## Long Taq DNA Polymerase

——超纯长片段扩增耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
ET103-01	Long Taq DNA Polymerase	250 U, 2.5 U/μl	150 元
ET103-02	(含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10×Long Taq Buffer)	500 U, 2.5 U/μl	280 元

### 产品内容

#### 10×Long Taq Buffer

配备两种高效扩增 Buffer，即 10×Long Taq Buffer I 和 Buffer II，可适应不同模板的扩增。请先使用 Buffer I，当使用 Buffer I 不能扩增时，再试用 Buffer II。

### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0)  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
100 mM KCl  
50% Glycerol  
Stabilizers

### 保存条件

-30~-15°C 保存

### 活性定义

1 单位 (U) Long Taq DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 min 内，以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物，将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标；经检测无外源核酸酶活性；PCR 方法检测无宿主残余 DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

### 主要技术参数

有 5'-3' 外切核酸酶活性和 3'-5' 外切酶活性。PCR 产物可直接进行 TA 载体克隆，如需提高克隆效率，建议先纯化，加 A 后再进行 TA 载体克隆。

### 适用范围

适合于保真度要求高的长片段及一些复杂模板（如含二级结构，富含 GC 序列和重复序列等）的扩增，如构建基因图谱、测序及分子遗传学研究等。

### 反应举例

以基因组 DNA 为模板，扩增 10 kb 的片段

Template	< 1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10× Long Taq Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Long Taq (2.5 U/μl)	0.5-1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94°C 3 min	} 30 Cycles
94°C 30 sec	
55°C 30 sec	
72°C 8 min	
72°C 5 min	

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果

### 产品说明

#### Long Taq DNA Polymerase

Long Taq DNA Polymerase 是本公司研制的具有 5'-3' 外切核酸酶活性和 3'-5' 外切酶活性的耐热 DNA 聚合酶，具备扩增效率高，保真性能强的特点。配备两种高效扩增 Buffer，可适应不同模板的扩增，对简单模板可扩增长达 40 kb 的片段，对复杂二级结构（GC rich 等）和具有重复序列的模板可扩增长达 15 kb 的片段。



## 常见问题

**Q: Long Taq Polymerase 是否只能扩增长片段?**

**A:** Long Taq DNA Polymerase 也可用于扩增短片段, 有些情况下扩增性能优于 Taq DNA 聚合酶。如果常规 PCR 反应不能得到目的片段, 可试用 Long Taq 酶或 Taq Plus 酶。

**Q: Long Taq DNA Polymerase 的 10×Buffer 如何使用?**

**A:** Long Taq DNA Polymerase 的制品包装中备有两种高效扩增 Buffer, 即 10×Buffer I 和 10×Buffer II, 适应不同模板的扩增, 实验时可先使用 Buffer I, 当使用 Buffer I 不能进行 PCR 扩增时, 再使用 Buffer II。

**Q: 扩增长片段, 为什么推荐使用二阶段温度 PCR 法?**

**A:** Long PCR 成功的关键之一是设计 30 mer 以上的长引物, 以增加引物的特异性, 而长引物的 T<sub>m</sub> 值一般较高, 在进行 PCR 反应时, 退火温度和延伸温度间的差距较小。当退火温度超过 60°C 时, 退火温度和延伸温度就可以设定在同一数值, 此时进行二阶段温度 PCR 反应, 效果颇佳。

**Q: 使用 Long Taq DNA Polymerase, 是否必须采用二阶段温度法?**

**A:** 不是, 当使用 20 mer 左右的引物进行长片段 PCR 扩增时, 进行三阶段温度 PCR 反应较好, 20 mer 左右的引物也在诸多实验中成功地进行过 Long PCR。

# Taq Platinum DNA 聚合酶 / 预混试剂

## Taq Platinum DNA Polymerase/PCR Mix

——超纯热启动高保真耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
ET104-01	Taq Platinum DNA Polymerase (含预混 Mg <sup>2+</sup> 的 10× Taq Platinum Buffer)	250 U, 2.5 U/μl	250 元
KT204-02	2× Taq Platinum PCR Mix (含染料)	5×1 ml	1250 元
KT204-12	2× Taq Platinum PCR Mix (不含染料)	5×1 ml	1250 元

### 产品内容

#### 10 × Taq Platinum Buffer

Buffer I	Buffer II
200 mM Tris-HCl (pH8.8)	200 mM Tris-HCl (pH9.0)
200 mM KCl	100 mM KCl
100 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	100 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
15 mM MgSO <sub>4</sub>	15 mM MgSO <sub>4</sub>
其它	其它

#### 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH8.0)  
0.1 mM EDTA  
1 mM DTT  
100 mM KCl  
50% Glycerol  
Stabilizers

#### 保存条件

ET104:-30~-15°C 保存

KT204:-30~-15°C 保存, 避免反复冻融

### 活性定义

1 单位 (U) Taq Platinum DNA Polymerase 活力定义为 74°C、30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物, 将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 质量控制检测

SDS-PAGE 检测纯度达标; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主残余 DNA; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温 (15~30°C) 存放一周, 无明显活性改变。

### 主要技术参数

有 5'-3' 外切核酸酶活性和 3'-5' 外切酶活性, 保真度仅次于 *Pfu* 聚合酶。DNA 聚合时的延伸速度比 *Pfu* 聚合酶快, 扩增效率更高。PCR 产物可直接进行平末端连接或 TA 载体克隆, 如需提高克隆效率, 建议先纯化, 加 A 后再进行 TA 载体克隆。

### 适用范围

可替代 *Pfu* 聚合酶, 用于从复杂模板中如基因组等扩增高保真产物, 如表达基因的克隆、基因的定点突变和细胞内基因点突变的分析 (SNP) 等。

### 反应举例

以基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段

Template	< 1 μg
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
10× Taq Platinum Buffer	5 μl
dNTP Mixture (2.5 mM each)	4 μl
Taq Platinum (2.5 U/μl)	0.5-1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

94°C 5 min  
94°C 30 sec  
55°C 30 sec  
72°C 2 min  
72°C 5 min

30 Cycles

PCR 反应结束取 5 μl 电泳检测结果

## 产品说明

### Taq Platinum DNA Polymerase

Taq Platinum DNA Polymerase 是经过化学修饰的热启动耐热聚合酶, 具有 3'-5' 外切酶活性和 5'-3' 外切核酸酶活性。常温时 Taq Platinum DNA Polymerase 的酶活性被封闭, 94°C 加热 5-10 min 才能恢复正常活力, 从而避免了 PCR 反应起始循环前低温条件下由引物非特异性退火或引物二聚体引起的非特异性扩增, 大大提高了 PCR 反应的灵敏度及特异性。同时 Taq Platinum DNA Polymerase 具有很高的保真度, 仅次于 *Pfu* 聚合酶, 且 DNA 聚合时的延伸速度比 *Pfu* 聚合酶快, 扩增效率更高。

### 一管便捷式 Taq Platinum PCR Mix (国家高新技术产品认证)

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度, 还能有效扩增 GC 含量高、二级结构等复杂模板。可扩增低至 2 个拷贝的目的模板, 使实验结果更加精确。
- 独创的 Taq Platinum PCR Mix 配方使整个反应体系非常稳定, 多次冻融或长期放于 2-8°C 亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便, 大大降低劳动强度和取样误差, 而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂, 降低了对 PCR 条件的要求。
- 分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳, 无需加入上样缓冲液。

## 设计 PCR 引物时的注意事项

- 引物长度通常为 20-25 mer。但进行长片段 PCR 时, 引物长度应增长为 30-35 mer。
- 二条引物之间不能互补配对, 特别对 3' 端的 3 个碱基需特别注意。
- GC 含量在 50-60%, 避开局部富含 GC 或 AT, 为了使引物和模板稳定结合, 3' 端避开 AT rich 结构。
- 避开引物自身形成二级结构。
- 选择 Tm 温度相互接近的两条引物。

## PCR 用引物的 Tm 值的计算方法

- 引物为 20 mer 以下时:  $Tm = 2^{\circ}C \times (A+T) + 4^{\circ}C \times (G+C)$ 。
- 引物为 20 mer 以上时:  $Tm = 81.5 + 0.41 \times (GC\%) - 600/L$  其中 L 为引物的长度。
- 在 PCR 反应过程中选择退火温度时, 一般为  $(Tm - 5)^{\circ}C$ 。

## PCR 引物使用量

合适的终浓度可在 0.1  $\mu$ M-1.0  $\mu$ M 之间选择。引物浓度过低导致扩增产物太少, 引物浓度过高则比较容易容易出现非特异性扩增。通常模板 DNA 的量较多或复杂模板 DNA (例如人基因组 DNA) 作为模板时, 引物浓度应低一些; 当模板 DNA 的量较少或简单模板 DNA (例如质粒 DNA 等) 作为模板时, 引物浓度应高一些。

# 高亲和力抗体修饰的 Taq DNA 聚合酶

## High Affinity HotStart Taq

——高亲和力抗体修饰热启动 DNA 聚合酶

目录号	包装	价格
ET108-02	500 U, 5 U/μl	830 元

### 产品包装

试剂盒组成	ET108-02
High Affinity HotStart Taq (5 U/μl)	500 U
10× HA Buffer	1.8 ml
5× Probe qPCR Buffer	2× 1 ml

### 产品特点

- 高亲和体系: High Affinity HotStart Taq 是特异性抗体修饰的热启动型 DNA 聚合酶, 其抗体亲和力高; 同时 Taq DNA Polymerase 具有较高的模板亲和力, 具有稳定的扩增效率, 和高的特异性; 该酶配合精心优化的 Buffer 体系, 使得 PCR 反应同时具有灵敏度高的优点。
- 稳定性强: 对于复杂模板, 低拷贝模板的 PCR 反应以及多重 PCR 反应等普通 DNA 聚合酶无法完成的实验, 本产品都具有较高的反应成功率。
- 应用广泛: 本产品不但适用于普通 PCR 分析, 还适用于定量 PCR 分析。

### 保存条件

-30~-15°C 保存

### 产品简介

本产品中的 High Affinity HotStart Taq 是 TIANGEN Taq DNA Polymerase 和其单克隆抗体的混合制品, 适用于 HotStart PCR 实验。在 PCR 反应高温加热前, Taq 单克隆抗体会与 Taq 酶结合, 抑制其聚合酶活性。本产品中高亲和力抗体可以保证在常温条件下完全屏蔽 Taq 酶活性, 使整个反应体系具有很高的特异性。另外, 本产品中的 Taq DNA Polymerase 具有较高的模板亲和力, 可以提高扩增的效率以及特异性。该试剂盒所产生的 PCR 产物 3' 末端为 A, 可直接用 TA 载体克隆。

### 下游应用

普通 PCR, 多重 PCR, 染料法和探针法 Real-Time PCR。

### 注意事项

1. 在进行普通 PCR 反应和染料法定量 PCR 反应时, 不需要额外的加入 5× Probe qPCR Buffer, 只有在进行探针法定量 PCR 时才需要额外加入 5× Probe qPCR Buffer。
2. 在进行探针法定量 PCR 时, 引物终浓度为 250 nM, 探针终浓度为 200 nM 可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。如果需要进一步优化引物浓度的, 可以在 50-900 nM 范围内调整; 需要进一步优化探针浓度的, 可以在 100-500 nM 范围内调整。

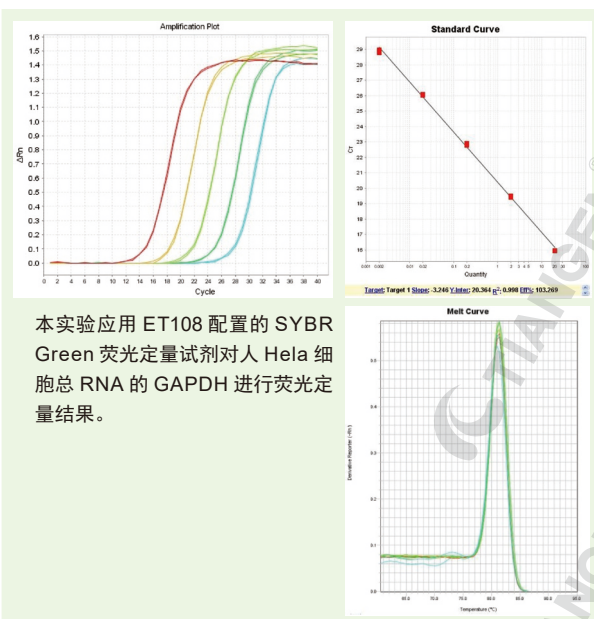
### 实验例

建立染料法 Real-Time PCR 反应体系:

Template	< 5 μl
dNTPs (2.5 mM, each)	1.6 μl
正向引物 (10 μM)	0.5 μl
反向引物 (10 μM)	0.5 μl
10× HA Taq Buffer	2.0 μl
High Affinity Hotstart Taq (5 U/μl)	0.2 μl
20× SYBR Solution	1.0 μl
50× ROX Reference Dye	—
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	至 20 μl

反应程序

阶段	循环	温度	时间	内容	荧光信号采集
预变性	1×	95°C	3-5 min	预变性	否
PCR 反应	40-45×	95°C	15 sec	变性	否
		60°C	30 sec	退火/延伸	是
熔解曲线	1×	65-95°C	—	熔解曲线	是



本实验应用 ET108 配置的 SYBR Green 荧光定量试剂对人 Hela 细胞总 RNA 的 GAPDH 进行荧光定量结果。

# 多重 PCR 扩增试剂盒

## Multi PCR Kit

—超高活性高特异的耐热 DNA 聚合酶

目录号	产品名称	包装	价格
KT109-02	多重 PCR 扩增试剂盒	100 次 (500 U)	2300 元

### 产品包装

试剂盒组成	100 次 (500U)
Multi HotStart DNA Polymerase (5U/μl)	500 U
10×Multi HotStart Buffer	1.8 ml
超纯 dNTPs (2.5 mM)	500 μl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1.8 ml
ddH <sub>2</sub> O	5 ml

### 保存条件

-30~-15°C 保存

### 活性定义

1 单位 (U) HotStart Taq DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 min 内，以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板 / 引物，将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

### 主要技术参数

有 5'-3' 外切核酸酶活性，无 3'-5' 外切酶活性，具有强的特异性。PCR 产物 3' 端为 A，可直接用于 TA 克隆。

### 产品简介

该试剂盒是专门为多重 PCR 研发的专项产品，包含多重 PCR 实验所需的全套试剂。其中 Multi HotStart DNA Polymerase 是目前发现的所有热启动酶中性能表现优异的耐热聚合酶。该酶利用化学修饰实现热启动，必须 95°C 加热 15 min 才能充分释放酶活，保证了高的特异性。可以满足多组 PCR 引物在同一体系中进行良好的扩增，灵敏的进行多重 PCR 反应。该酶在低温或常温无聚合酶活性，可在常温进行 PCR 体系配制。高纯度 dNTPs 可以进一步保证扩增的特异性。如果模板特殊，可以通过调节 Mg<sup>2+</sup> 的浓度改善扩增效果。

### 产品特点

- 高特异性：化学修饰的热启动酶，激活时间长达 15 min，保证高特异扩增。
- 高灵敏性：可以实现低拷贝扩增和多重 PCR 的高效扩增。
- 操作简便：该酶在低温和常温下无活性，可在室温进行试剂的配制。

### 适用范围

- 多重 PCR 实验
- 高特异性检测实验
- 低拷贝扩增实验
- 复杂结构模板的 PCR 扩增（如结构复杂的 genomic DNA, cDNA 等）

### 反应举例

以人基因组为模板，扩增 7 个不同片段 (100 bp-1000 bp)

Template	100 ng
10×Primer mix (2 μM each)	5 μl
10×Multi HotStart Buffer	5 μl
dNTPs	200 μM
Multi HotStart (5U/μl)	1 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

95°C 15 min	40 Cycles
94°C 30 sec	
58°C 90 sec	
72°C 90 sec	
72°C 10 min	

注意：①多重 PCR 时扩增不同长度的延伸时间确定：  
 扩增小于 500 bp 片段延伸 60 sec；扩增 500-1500 bp 片段延伸 90 sec；扩增 2000 bp 以上片段延伸 120 sec。  
 ②热启动必须保证 95°C 加热 15 min，以确保酶活释放充分。



## 一管便捷式 PCR Mix

由于 PCR 极高的灵敏性，此技术最令人头痛的问题是易污染，微量的污染即可产生假阳性反应，从而影响检测结果的准确度。随着 PCR 技术的日益普及，人们试图努力使 PCR 过程更加简化和 PCR 结果更加精确。许多生物技术公司开始寻找能使耐热 DNA 聚合酶在 PCR 反应体系中和在室温下更加稳定的活性增强剂和稳定剂。由于多种稳定剂的发现，稳定高效预配好的 PCR 混合液不仅简化了操作程序而且减少了在配制过程中多种溶液被 PCR 核酸模板污染的可能性，同时也大大减少在加样过程中人为造成的误差，有效地提高了 PCR 反应的特异性。

TIANGEN 公司科技人员查阅了大量的国外文献，在国外科学家现有的研究成果基础上，经过大量的科学实验，自行研制出一管便捷式 PCR Mix 和双组分简单型 PCR 反应系统（Golden PCR System）。该产品与国内外几家生物技术公司生产的同类产品比较，具有以下显著特点：

### ■ 灵敏度高

可扩增 2 个拷贝的目的模板。这主要是由于优质的 PCR 聚合酶和适宜的反应体系。

### ■ 特异性强

PCR Mix 中加入了高性能 PCR 增强剂和优化剂，适用于常规 PCR 反应和一些结构复杂的模板，如 GC 含量高（>80%），有二级结构等，也可有效扩增。降低了对 PCR 条件的要求，增加了 PCR 反应的特异性，使实验结果更加精确。

## 产品列表

目录号	产品名称	包装	价格
KT201-01	2× Taq PCR Mix (含染料, 蓝色)	1 ml	150 元
KT201-02	2× Taq PCR Mix (含染料, 蓝色)	5×1 ml	600 元
KT201-12	2× Taq PCR Mix (不含染料, 无色)	5×1 ml	600 元
KP201-02	2× Pfu PCR Mix (含染料, 蓝色)	5×1 ml	850 元
KP201-12	2× Pfu PCR Mix (不含染料, 无色)	5×1 ml	850 元
KT205-02	2× Taq Plus PCR Mix (含染料, 蓝色)	5×1 ml	850 元
KT205-12	2× Taq Plus PCR Mix (不含染料, 无色)	5×1 ml	850 元
KT202-02	2× HotStart Taq PCR Mix (含染料, 蓝色)	5×1 ml	1250 元
KT202-12	2× HotStart Taq PCR Mix (不含染料, 无色)	5×1 ml	1250 元
KT204-02	2× Taq Platinum PCR Mix (含染料, 蓝色)	5×1 ml	1250 元
KT204-12	2× Taq Platinum PCR Mix (不含染料, 无色)	5×1 ml	1250 元
KT206-01	2× GC-Rich PCR MasterMix (含染料)	500 μl	150 元
KT206-11	2× GC-Rich PCR MasterMix (不含染料)	500 μl	150 元
KT211-02	2× Taq PCR MasterMix II (含染料)	5 ml	400 元
KT211-03	2× Taq PCR MasterMix II (含染料)	100 ml	6580 元
KT211-12	2× Taq PCR MasterMix II (不含染料)	5 ml	400 元
KT211-13	2× Taq PCR MasterMix II (不含染料)	100 ml	6580 元

### 技术参数

每种预混体系主要参数与体系中所使用的相对应的聚合酶相同。

Taq PCR Mix	应用广泛, 灵敏度高
Pfu PCR Mix	保真度高、稳定性好
Taq Plus PCR Mix	兼高保真和高效率为一体
HotStart Taq PCR Mix	有效减少背景、增强特异性
Taq Platinum PCR Mix	特异性强, 保真度高
2×GC-Rich PCR Mix	应用于高 GC 模板的扩增

### 用量举例

使用一管便捷式 PCR MasterMix 产品, 反应体系为 50 μl。(如反应体系不同, 可按此比例增加或减少用量)

Template	<1 μg
Primer 1 (10 μM)	2 μl
Primer 2 (10 μM)	2 μl
2×PCR Mix	25 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

### 一管便捷式 MasterMix 所含成分的反应终浓度

10 mM Tris-HCl (pH8.3)
50 mM KCl
1.5 mM MgCl <sub>2</sub>
250 μM dNTP each
0.05 U Polymerase/μl
ddH <sub>2</sub> O
其它稳定剂和增强剂

### 质量控制检测

经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法检测无宿主 DNA 残留; 能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因; 室温存放一周, 无明显活性改变。

### 产品稳定性

一管便捷式 PCR Mix 系列所有产品在 -30~-15°C 条件下可保存一年以上。2-8°C 放置三个月, 无明显活性改变。

### 使用流程简介

- Step 1: 按比例混合各种组分。
- Step 2: 马上开始实验。
- Step 3: 含染料 Mix 直接电泳。
- Step 4: 满意的实验结果。



## 2× Taq PCR 预混试剂 II

### 2× Taq PCR MasterMix II

——高效高抗逆性的快速 PCR 预混液

目录号	包装	价格
KT211-02	5 ml	400 元
KT211-03	100 ml	6580 元
KT211-12	5 ml	400 元
KT211-13	100 ml	6580 元

#### 产品包装

试剂盒组成	KT211-02	KT211-12
2× Taq P MasterMix II	5×1 ml	5×1 ml
ddH <sub>2</sub> O	5 ml	5 ml
Loading dye in MasterMix II	Yes	No

#### 自备试剂

引物、模板

#### 保存条件

-30~-15℃保存

#### 下游应用

DNA 片段的 PCR 扩增、DNA 标记、引物延伸、序列测定、大规模基因检测，半定量 PCR 实验和微量 DNA 的检测等。

#### 产品简介

本产品为新优化升级的 2 倍浓度的即用型 PCR 预混试剂。含有高纯度的 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应增强剂和优化剂以及稳定剂。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度的减少人为误差、节约操作时间、降低污染几率。适用于常规 PCR 反应、复杂模板如 GC 含量高 (>60%)，有二级结构等的扩增和大规模基因检测。PCR 产物的 3' 端附有一个突出的“A”碱基，纯化后可直接用于 T 载体克隆。

#### 产品特点

- 高扩增效率：高效扩增不同大小（长达 5 kb）、不同来源的 DNA 片段。
- 高抗逆性：对于粗提模板 / 菌液 / 高 GC、复杂模板也能轻松扩增目的片段。
- 灵敏度高：可以扩增低至 10 pg 基因组 DNA 模板。
- 操作简便：只需加入模板和引物，轻松配好体系，特别适合大批量基因鉴定，PCR 产物带 A，纯化后可直接用 T/A 载体克隆。

#### 实验例

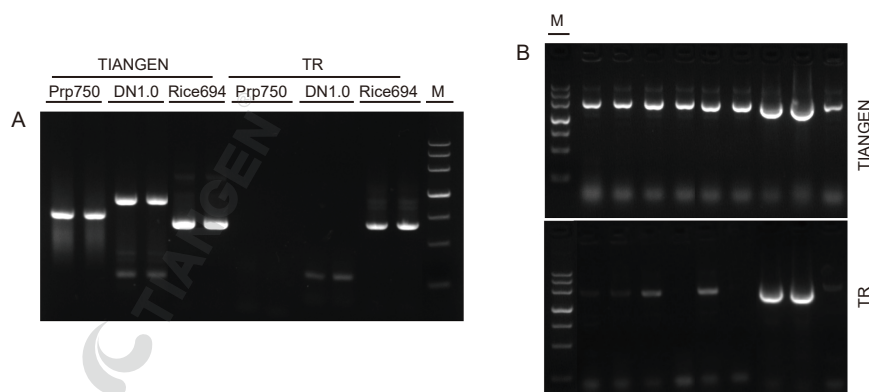


图 1. 使用 TIANGEN Taq MasterMix II 以及 TR 公司的普通 Taq Mix 分别扩增不同来源的模板，检测试剂抗逆性。结果显示，TIANGEN 产品可从粗提的基因组模板和菌液中扩增出目的片段，抗逆性优于竞争产品。

A: 粗提的基因组模板。粗提使用 TIANGEN KG203。Prp/DN: 人类血液样本粗提检测。Rice: 水稻样本粗提检测。

B: 菌落 PCR。PCR 片段为 700 bp。

M: TIANGEN Marker III

### 针对于不同来源、不同长度模板扩增具有优良的普适性

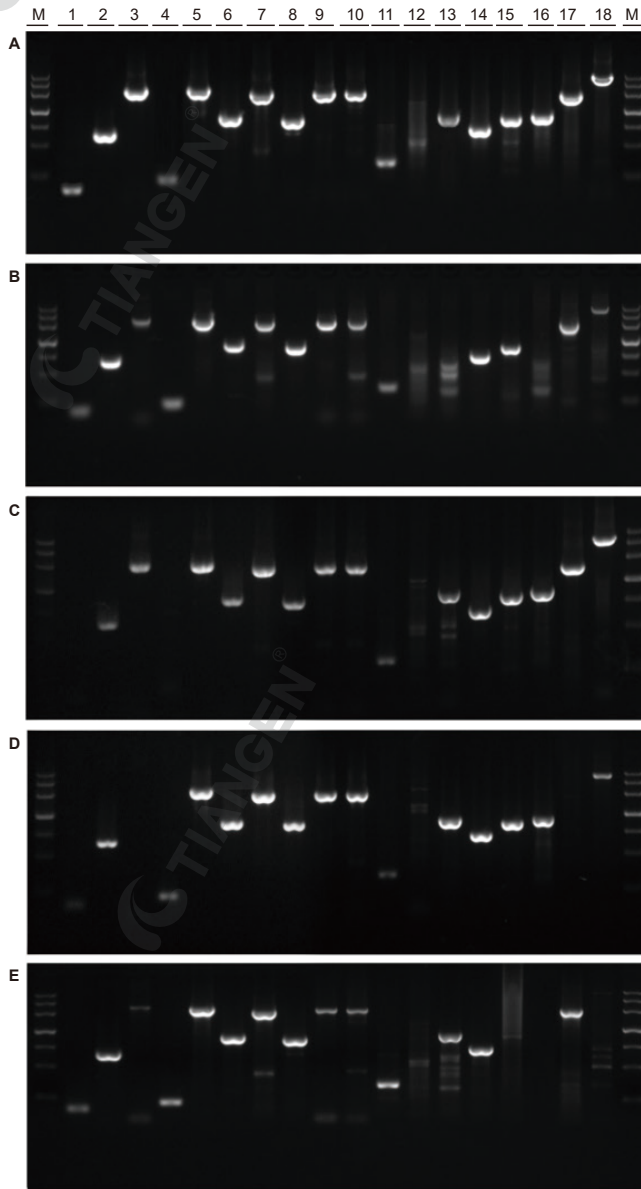


图 2. 使用 TIANGEN Taq MasterMix II (A) 以及 TK 公司 (B)、TR 公司 (C)、V 公司 (D) 和 G 公司 (E) 的普通 Taq Mix 分别扩增不同来源、不同长度的片段。结果显示, TIANGEN 产品在扩增能力、特异性、普适性等的综合性能表现最优。

M: TIANGEN Marker III

- 1: 大豆基因组 DNA 模板 (120 bp)
- 2-3: 水稻基因组 DNA 模板 (694 bp, 2258 bp)
- 4: 棉花基因组 DNA 模板 (200 bp)
- 5: 大肠杆菌基因组 DNA 模板 (2298 bp)
- 6-7: 小鼠基因组 DNA 模板 (1 kb, 2 kb)
- 8-10: 大鼠基因组 DNA 模板 (1 kb, 2 kb, 2080 bp)
- 11-18: 人类基因组 DNA 模板 (300 bp, 448 bp (GC% 74.8%), 1100 bp, 750 bp, 1000 bp, 1090 bp (GC% 70.4%), 2 kb, 4 kb)

### 高检测灵敏度

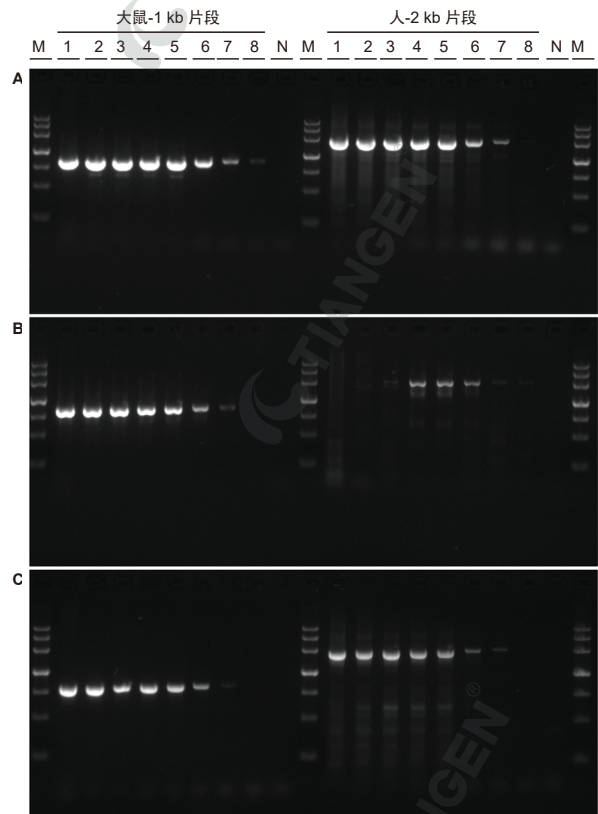


图 3. 使用 TIANGEN Taq MasterMix II (A) 以及 V 公司 (B) 和 TK 公司 (C) 的普通 Taq Mix 分别扩增不同浓度的大鼠和人的片段, 检测扩增灵敏度。结果显示, TIANGEN 产品可从低至 0.01 ng 的基因组模板中扩增出目的片段, 灵敏度优于竞争产品。

M: TIANGEN Marker III, N: NTC

模板加入量 1-8: 200 ng, 100 ng, 50 ng, 20 ng, 10 ng, 1 ng, 0.1 ng, 0.01 ng。

## 2×GC-Rich PCR 预混试剂

### 2×GC-Rich PCR MasterMix

——适用高 GC 模板扩增的高保真 PCR Mix

目录号	产品名称	包装	价格
KT206-01	2×GC-Rich PCR MasterMix (含染料)	500 μl	150 元
KT206-11	2×GC-Rich PCR MasterMix (不含染料)	500 μl	150 元

#### 产品简介

本产品包含 Taq Plus DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和优化剂以及稳定剂，浓度为 2×。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度的减少人为误差。适用于保真度较高的 PCR 反应和结构复杂的模板如 GC 含量高，有二级结构等的扩增，对简单模板可有效扩增长达 20 kb，对复杂模板也可达 10 kb。

#### 产品特点

- 高效扩增高 GC 含量目的片段：优化的缓冲体系与独特配方有助于 GC 含量高模板解链，大限度发挥酶的扩增效率（60-75% GC 含量）。
- 对复杂模板、二级结构非常有效。
- 高保真度：PCR MasterMix 中采用高保真酶，保证扩增的准确性。
- 高效、超强稳定的预混系统，可最大限度的减少人为误差。

#### 保存条件

-30~-15℃保存

## 2×HotStart Taq PCR 预混试剂

### 2×HotStart Taq PCR Mix

目录号	产品名称	包装	价格
KT202-02	2×HotStart Taq PCR Mix (含染料)	5×1 ml	1250 元
KT202-12	2×HotStart Taq PCR Mix (不含染料)	5×1 ml	1250 元

#### 产品简介

本产品包含 HotStart Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和优化剂以及稳定剂，浓度为 2×。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度的减少人为误差。适用于高特异性 PCR 反应、复杂模板如 GC 含量高（>60%），有二级结构等的扩增和大规模基因检测。

#### 产品说明

—管便捷式 HotStart Taq PCR Mix (国家高新技术产品认证)

- 显著提高 PCR 反应的特异性和灵敏度，还能有效扩增 GC 含量高、二级结构等复杂模板。可扩增 2 个拷贝的目的模板，使实验结果更加精确。
- 独创的 HotStart Taq PCR Mix 配方使整个反应体系非常稳定，多次冻融或长期放于 2-8℃亦不会影响活性。
- 稳定高效预配好的 PCR 混合液快速简便，大大降低劳动强度和取样误差，而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂，降低了对 PCR 条件的要求。
- 分成含染料和不含染料两种体系。含染料的 PCR Mix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳，无需加入上样缓冲液。



# Golden Easy PCR 系统

## Golden Easy PCR System

——双组分简单型 PCR 反应系统

目录号	产品名称	包装	价格
KT221-02	Golden Easy PCR System (含染料)	组分 I : 500 U 组分 II : 2×5 ml	400 元

### 产品包装

组成	KT221-02
Golden DNA Polymerase	500 U
2×Reaction Mix (含染料)	2×5 ml

### 保存条件

-30~-15°C 保存

### 产品特点

- 稳定性好：独特的配方使整个反应体系非常稳定。该系统含有效 PCR 扩增所需组分如耐热 DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub> 和缓冲溶液，还含有多种特殊的稳定剂，使酶和 dNTPs 在常温和 2-8°C 条件下稳定性大大增加。
- 快速简便：使用方法简单快捷，只需将两种组分按比例混合后加入模板和引物即可。省去了一一加入各种 PCR 反应组分的烦恼，节省您宝贵的时间。大限度减少取样错误和交叉污染，不同批次之间误差很小，可用于半定量实验。
- 应用广泛，灵敏度高。
- 每种反应系统中都含有染料，让你的 PCR 和电泳步骤无时间的阻隔，快速省力。

### 用量举例

使用双组分简单型 PCR 反应系统 (Golden Easy PCR System) 产品，反应体系为 50 μl (如反应体系不同，可按此比例增加或减少用量)。

Template	<1 μg
Golden DNA Polymerase (2.5U/μl)	0.5 μl
Primer 1 (10 μM)	2 μl
Primer 2 (10 μM)	2 μl
2×Reaction Mix	25 μl
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 μl

### 质量控制检测

经检测无外源核酸酶活性；PCR 方法检测无宿主 DNA 残留；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

### 产品稳定性

使用双组分简单型 PCR 反应系统 (Golden Easy PCR System) 产品，可在 2-8°C 放置一个月，无明显活性改变。

### 反应终浓度

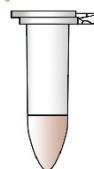
10 mM Tris-HCl (pH8.3)  
50 mM KCl  
1.5 mM MgCl<sub>2</sub>  
250 μM dNTP each  
0.025 U Polymerase/μl  
ddH<sub>2</sub>O  
其它稳定剂和增强剂

### 使用流程简介

- Step 1: 按比例混合各种组分。
- Step 2: 马上开始实验。
- Step 3: 含染料 Mix 直接电泳。
- Step 4: 满意的实验结果。

组分 I  
组分 II

模板和引物



双组分简单型 PCR 反应系统  
(Golden Easy PCR System)

## 快速 DNA 提取检测试剂盒

## TIANcombi DNA Lyse &amp; Det PCR Kit

—可从多种材料中快速提取 DNA 进行 PCR 检测

目录号	包装	价格
KG203-02	20 $\mu$ l $\times$ 50 次	600 元
KG203-03	20 $\mu$ l $\times$ 200 次	1920 元

## 产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
缓冲液 B1	6 ml	24 ml
缓冲液 B2	6 ml	24 ml
2x Det PCR MasterMix	500 $\mu$ l	2 $\times$ 1000 $\mu$ l
研磨杵	10 个	20 个

## 产品简介

本试剂盒采用独特的包装体系, 包含了快速制备基因组 DNA 和 PCR 扩增的所有试剂, 适用于从植物组织、种子、动物组织、血液样品、酵母和细菌中一步法提取基因组 DNA 并用于后续的 PCR 扩增和检测。整个提取过程不包含去蛋白、去 RNA 及其它次生代谢物的过程, 无需有机溶剂抽提, 无需无水乙醇沉淀, 简便、快捷, 而且质量稳定可靠。

本试剂盒提供的 2x Det PCR MasterMix 是一种扩增兼容性很强的 PCR 试剂, 无需彻底去除蛋白等杂质, 便能进行高效特异扩增, 该试剂包含 *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、 $MgCl_2$ 、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和优化剂及稳定剂。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点, 特别适合于高通量的筛选。

## 下游应用

■ 基因检测: 适合大规模的基因检测。

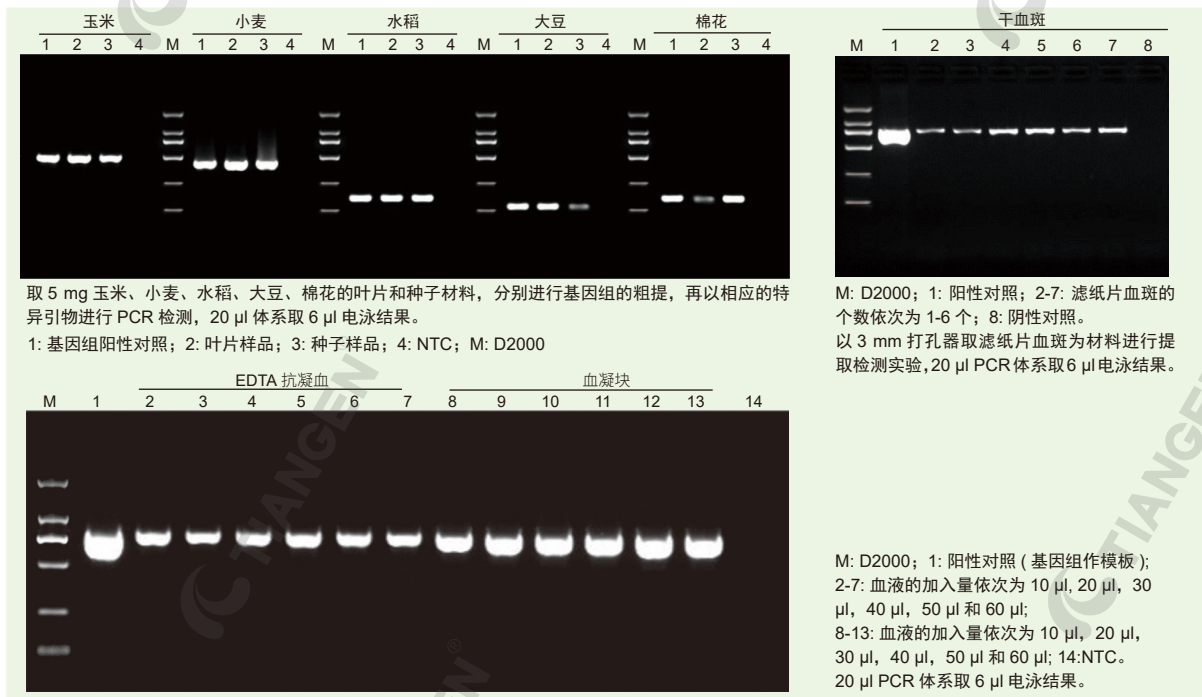
## 保存条件

缓冲液 B1 和缓冲液 B2 在室温 (15-30 $^{\circ}$ C) 干燥条件保存; 2x Det PCR MasterMix 在 -30~-15 $^{\circ}$ C 保存。

## 产品特点

- 简单快速: 无需液氮, 5 min 即可快速提取各种组织 DNA。
- 材料广泛: 适用于植物叶片、种子、动物组织、血液样品 (新鲜血、抗凝血、血凝块、干血斑等)、酵母和细菌等材料。
- 兼容性强: PCR 试剂适用于提取的各种来源样本的 DNA 扩增。

## 实验例



## 注意事项

■ 对于类似于棉花叶片这种含有酚类较多的样品, 应严格控制样品处理量不超过 0.4 mg, 否则会影响 PCR 反应。

# 血液直接 PCR 试剂盒

## Blood Direct PCR Kit

— 无需提取，直接以血液为模板快速扩增目的基因

目录号	包装	价格
KG204-01	20 $\mu$ l $\times$ 100 次	800 元

### 产品包装

产品组成	100 次 (20 $\mu$ l 体系)
2 $\times$ Blood Direct PCR MasterMix	1 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml

### 下游应用

PCR 产物 3' 端为 A，可直接用于 TA 载体克隆。可用于基因组 DNA 片段的扩增检测、高通量遗传分析和基因分型（如基因缺失）等研究。

### 保存条件

-30~-15 $^{\circ}$ C 保存

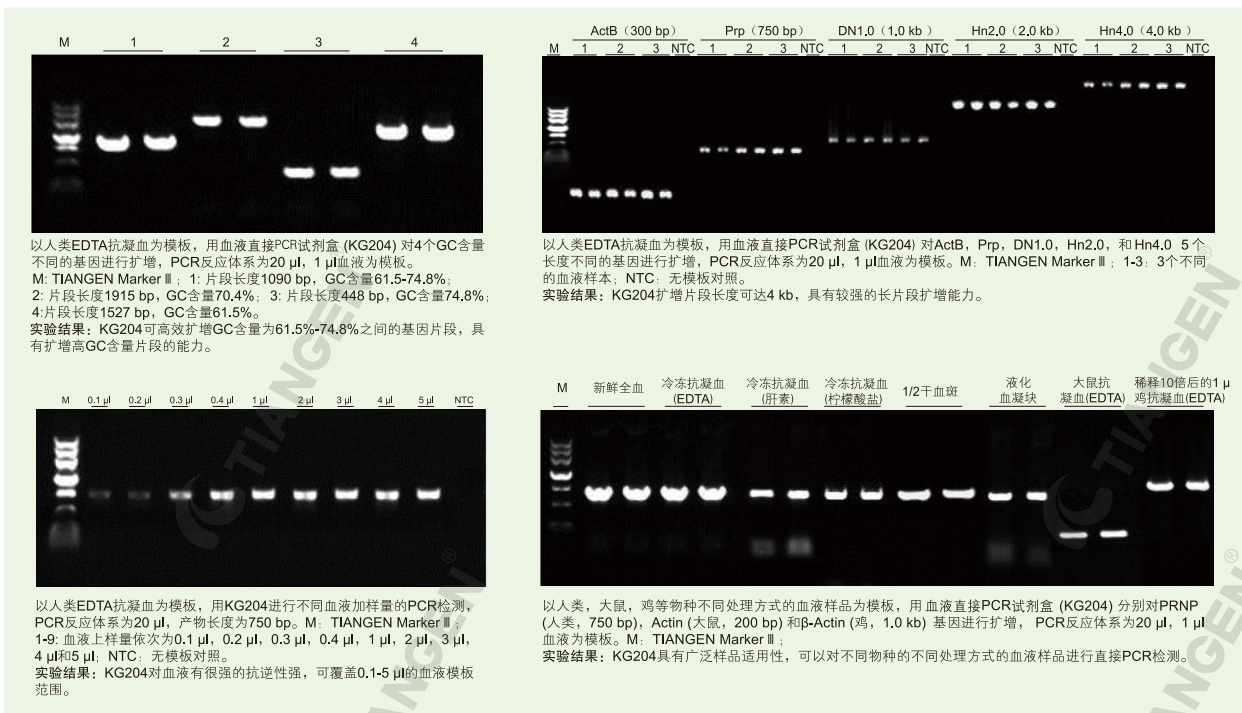
### 产品简介

本试剂盒利用基因工程改造的抑制性 DNA 聚合酶，能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因。配合精心优化的 Buffer 体系，具有超强抗 PCR 抑制物能力，可直接以血液 / 培养细胞为模板进行 PCR 扩增，操作简便，无需进行 DNA 的纯化或样品前处理等繁琐步骤。试剂盒的 PCR 组分为 2 $\times$  预混 Mix，只需加入血液模板和相应检测引物即可进行反应，适于人、小鼠、猪、牛等哺乳动物和禽类等物种的培养细胞，新鲜及 2-8 $^{\circ}$ C 储存冷冻全血、抗凝血 (EDTA、柠檬酸盐、肝素)、液化的血凝块及贮存在 Whatman903<sup>®</sup> 和 FTA<sup>®</sup>Elute 商用卡上的干血斑等样本 PCR 检测。

### 产品特点

- 简便快捷：直接以血液为模板进行 PCR 鉴定，告别样本前处理和 DNA 提取等繁琐步骤。
- 纯度高：不需前处理和 DNA 提取过程，避免样本交叉污染问题。
- 通量高：配合 96/384 孔 PCR 板使用，可进行大规模样本的 PCR 鉴定工作。
- 普适性强：有效扩增高 GC 或具有复杂二级结构的片段，扩增长度可达 5 kb。
- 抗逆性强：适用于多物种、多种不同保存方式的血液样品。

### 实验例



# 小鼠组织直接 PCR 试剂盒

## Mouse Tissue Direct PCR Kit

——快速释放核酸的小鼠基因分型试剂盒

目录号	包装	价格
KG205-01	25 $\mu$ l $\times$ 50 次	400 元
KG205-02	25 $\mu$ l $\times$ 200 次	1280 元

### 产品包装

试剂盒组成	50 次	200 次
	(25 $\mu$ l 体系)	(25 $\mu$ l 体系)
Tissue Lysis Buffer	5 ml	20 ml
Digestive Enzyme	200 $\mu$ l	800 $\mu$ l
2 $\times$ Dir PCR MasterMix	625 $\mu$ l	2 $\times$ 1.25 ml
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml	2 $\times$ 1 ml

### 自备试剂

无

### 保存条件

组织裂解缓冲液 Tissue Lysis Buffer 和 Digestive Enzyme 在室温 (15-30 $^{\circ}$ C) 干燥条件保存; 2 $\times$ Dir PCR MasterMix -30~-15 $^{\circ}$ C 保存。

### 产品简介

本试剂盒采用独特的包装体系, 包含了快速制备小鼠组织基因组 DNA 和后续 PCR 扩增的所有试剂, 适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法提取基因组 DNA 并用于后续的 PCR 扩增和检测。整个提取过程不包含匀浆、破碎、过夜消化、酚氯仿抽提、DNA 沉淀或柱式纯化等操作, 实验操作简便、快捷, 而且结果稳定可靠。

试剂盒提供的 2 $\times$ Dir PCR MasterMix 是一种高扩增兼容性的 PCR 试剂, 无需彻底去除蛋白等杂质, 便能进行高效特异扩增。该预混 Mix 包含抗体修饰的 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应增强剂和稳定剂, 操作时只需加入粗提模板和引物即可进行后续检测, 具有操作简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点, 特别适合于高通量的检测筛选。Mix 中预混有电泳染料, 可在反应结束后直接进行电泳检测, 使用方便快捷。PCR 产物的 3' 端带 A, 可进行 TA 克隆。

### 产品特点

- 简单快速: 无需液氮研磨和有机溶剂抽提, 60 min 即可快速提取小鼠组织 DNA。
- 适用广泛: 适用于从小鼠尾巴、耳朵以及脚趾等组织中一步法提取基因组 DNA。
- 高特异性: 本产品所用 Taq 酶为抗体修饰热启动酶, 具有高模板和引物亲和性及扩增特异性, 特别适合基因分型和转基因鉴定。
- 基因检测: 本产品操作简便, 结果可靠, 特别适合小鼠的高通量分析检测。

### 检测流程 & 实验例

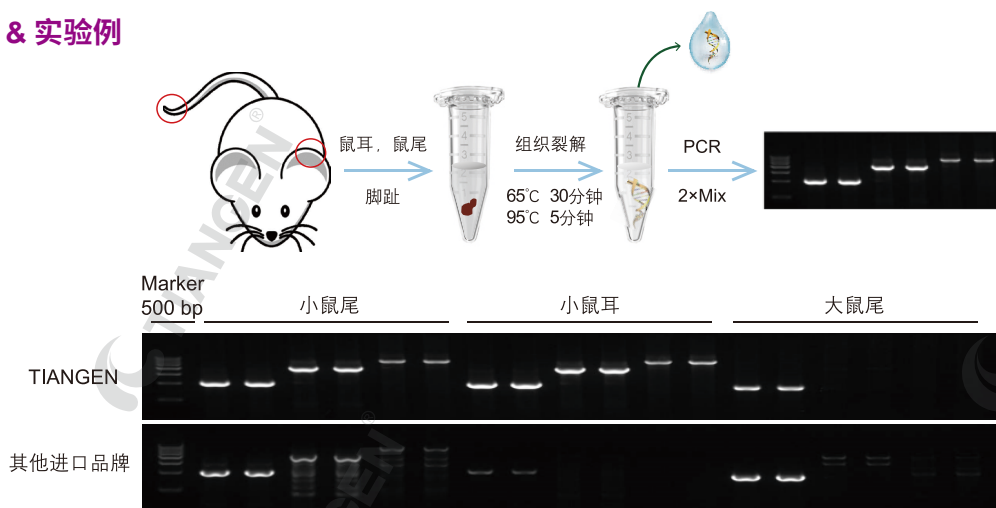


图. 使用 TIANGEN KG205 与国外同类产品进行比较, 分别对小鼠、鼠尾以及大鼠鼠尾进行检测片段的长度为 1000 bp、2000 bp 和 3000 bp。就检测特异性及成功率, TIANGEN 产品均表现型出良好性能。



## 快速定点突变试剂盒

## Fast Site-Directed Mutagenesis Kit

—快速在目标载体上对靶基因进行单点或多点突变

目录号	包装	价格
KM101	20 次	1300 元

## 产品包装

试剂盒组成	20 次
FastAlteration DNA Polymerase (1 U/μl)	20 μl
5× FastAlteration Buffer	200 μl
Dpn I restriction enzyme (20 U/μl)	20 μl
4.5 kb Control plasmid (5 ng/μl)	40 μl
Control primers (5 μM, each)	80 μl
FDM competent cells	20×50 μl

## 保存条件

-30~-15℃保存

## 产品简介

体外定点突变技术是当前生物、医学各领域研究中的一种重要实验手段，多用于改造、优化目的基因；探索启动子的调节位点；以及研究蛋白质结构和功能之间的复杂关系。本试剂盒采用目前领先技术，可在目标载体上直接对靶基因进行单点突变，多点突变及插入或缺失突变，并且单点突变的突变率可达 90% 以上。另外，与以往的突变试剂盒需要多轮 PCR 及亚克隆等耗时耗力的步骤不同，本试剂盒的操作更为简便，从未突变菌株到突变菌株的构建只需要 4 步。

## 产品特点

- 简便快速：试剂盒采用非链取代式质粒扩增技术，只需 4 步即可实现由非突变菌株到突变菌株的转变，而不需要多轮 PCR 及亚克隆等耗时耗力的步骤。
- 高效引物：试剂盒采用部分重叠的引物设计原则，可以扩增得到更多的突变质粒。
- 应用广泛：本试剂盒不但可进行单点突变，还可以进行多点突变，且突变点数可达 5 个。
- 适应性强：本试剂盒可对高达 10 kb 的质粒进行定点突变，基本覆盖所有常用质粒。
- 突变率高：本试剂盒具有体外和体内双重消化甲基化质粒模板的功能，可以保证更高的突变率

## 点突变反应体系配制及反应程序

- 在进行单引物多位点突变时，由于增加了突变位点个数，所以突变率较单点突变时会有所降低，根据我们的实验数据，当突变位点个数达到 5 个时，突变阳性率会降低到 50%。因此建议客户要增加验证的克隆子数。
- 本试剂盒支持多引物多位点突变，这样可以在基因内更广泛的范围内同时进行突变实验。突变位点个数的上限仍然是 5 个。
- 建议在进行新的突变实验时要带上试剂盒附带的对照质粒和引物，以便于对实验问题进行分析。

组成成分	50 μl 体系
DNA Template	10~100 ng
正向突变引物 (10 μM)	2 μl
反向突变引物 (10 μM)	2 μl
5× FastAlteration Buffer	10 μl
FastAlteration DNA Polymerase (2.5 U/μl)	1.5 μl
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	至 50 μl

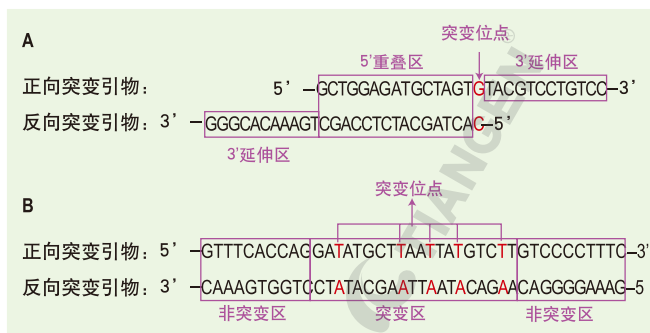
## 反应程序

阶段	循环	温度	时间	内容
预变性	1×	95℃	2 min	预变性
PCR 反应	18×	94℃	20 sec	变性
		55℃	10 sec	退火
		68℃	2.5 min	延伸
补充延伸	1×	68℃	5 min	补充延伸
模板消化		37℃	1 h	Dpn I 消化质粒模板



## 引物设计原则

- 1、两条引物上都要包含突变位点，且除突变位点以外的碱基都要与质粒模板互补配对。
- 2、若引物中只有一个突变位点，则需采用图中 A 的设计原则。此类引物包括 5' 重叠区和 3' 延伸区两部分。引物总长度大约为 30 nt，其中 5' 重叠区为 15-20 nt，3' 延伸区至少为 10 nt。突变位点在正向突变引物的重叠区以后，反向突变引物的 5' 末端。
- 3、若引物上含有 2-5 个突变位点，则需采用图中 B 的设计原则。此类引物的两条序列完全互补，分为突变区和非突变区两部分。引物总长度大约为 40 nt，其中突变区为 15-20 nt，非突变区至少为 10 nt。根据实验需求可在突变区内设计 2-5 个突变位点。
- 4、为保证高突变率，突变引物需通过 FPLC 或 PAGE 方式纯化。



## 常见问题及解决办法

## 1、转化效率低或菌落数少

原因	解决办法
反应体系中扩增出的突变质粒量不足	增加转化体系的量至 10 $\mu$ l。
PCR 反应体系中模板质粒量不足	将模板质粒进行琼脂糖凝胶电泳及定量分析，以确定质粒的质量和浓度是否符合试剂盒要求。

## 2、对照组突变率低或者菌落数少

原因	解决办法
PCR 程序不适宜	确定 PCR 程序适宜对照组要求，并用确定后的程序再进行一次对照组实验以彻底排除 PCR 程序的影响。
扩增产物不足	可将 PCR 反应的循环数增加至 25 个。
感受态细胞保存不当	收到试剂盒以后应第一时间将感受态细胞转入 -90~-65 $^{\circ}$ C 冰箱中保存，且应将感受态放于冰箱的里面而不要放在门口。
X-gal 和 IPTG 的用量不足	对本试剂盒而言，应在氨苄抗性的平板上，涂布 20 $\mu$ l 0.2 M 的 IPTG 和 40 $\mu$ l 40 mg/ml 的 X-gal，才能保证阳性突变株的菌落变为蓝色。
5 $\times$ PCR 反应 Buffer 反复冻融	此 Buffer 中含有 dNTP 等容易降解的成分，反复冻融会加速这些物质的降解，因此，在实际操作中应尽量避免对 5 $\times$ PCR 反应 Buffer 的反复冻融。

## 3. 实验组突变率低或者菌落数少

原因	解决办法
PCR 程序不适宜	确定 PCR 程序适宜实验组要求，并用确定后的程序再进行一次对照组实验以彻底排除 PCR 程序的影响。
反应体系混合不均匀	用移液器轻轻吸打将反应体系混合均匀。
加入 Dpn I 后未混匀充分	酶切阶段，加入 Dpn I 后一定要用移液器轻轻吸打多次以保证 Dpn I 与 PCR 体系混合均匀。
转化体系中质粒模板过剩	质粒模板过剩会极大的影响突变效率。若排除其他影响后，突变率仍然很低，可以考虑增加 Dpn I 的用量至 2 $\mu$ l 或延长酶切时间至 1.5 h。
5 $\times$ PCR 反应 Buffer 反复冻融	此 Buffer 中含有 dNTP 等容易降解的成分，反复冻融会加速这些物质的降解，因此，在实际操作中应尽量避免对 5 $\times$ PCR 反应 Buffer 的反复冻融。

# GeneGreen 核酸染料

## GeneGreen Nucleic Acid Dye

—安全无毒高灵敏的 EB 替代染料

目录号	包装	价格
RT210	500 $\mu$ l	550 元

### 产品包装

#### 试剂盒组成

10,000 $\times$  GeneGreen Nucleic Acid Dye 500  $\mu$ l

### 保存条件

2-8 $^{\circ}$ C 避光保存

### 产品简介

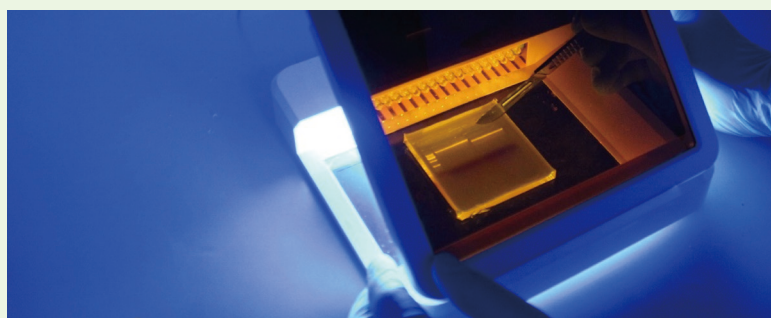
GeneGreen 核酸染料是一种以花菁为基础进行改良的油性大分子，降低了传统花菁类核酸染料在电泳过程中对核酸迁移率的影响，不会产生电泳条带弯曲现象。该染料不能穿透细胞膜进入活体细胞内，不易挥发而被吸入人体，诱变性远远低于 EB。可在蓝色可见光激发装置下进行切胶回收，安全方便，是一种安全无毒、高灵敏的全新核酸染料。

### 产品特点

- 安全无毒：独特的油性大分子特点使其不能穿透细胞膜进入细胞内，该染料的诱变性远小于 EB。
- 兼容：既适用于 254 nm 紫外凝胶成像系统，也适用于蓝色可见光激发装置。在蓝光下进行切胶操作时，既可避免紫外切胶对操作人员眼睛和皮肤造成的伤害，又可避免核酸产物长时间暴露在紫外光下发生损伤。
- 灵敏度高：荧光信号强，背景信号低，具有高信噪比。

### 实验例

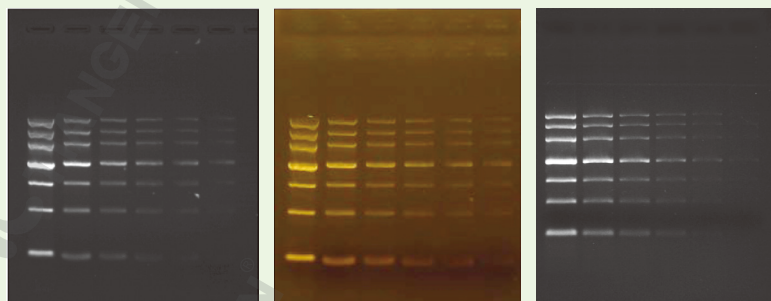
GeneGreen 核酸染料配合天根的切胶仪 (OSE-470) 的使用效果



GeneGreen 染色紫外成像效果

GeneGreen 染色蓝光观察效果

EB 染色紫外成像效果



2 倍梯度稀释 TIANGEN Marker III，包括原浓度共 6 个梯度，DNA 上样量 6  $\mu$ l，最亮条带 (1200 bp) 依次为 100 ng, 50 ng, 25 ng, 12.5 ng, 6.25 ng, 3.125 ng。

结论：在紫外成像下，GeneGreen 与 EB 灵敏度相当，但 GeneGreen 在蓝光下灵敏度比 EB 染色紫外成像灵敏度更高，使用也更加灵活方便。

# GeneRed 核酸染料

## GeneRed Nucleic Acid Dye

——高灵敏的安全染料

目录号	包装	价格
RT211	500 $\mu$ l	550 元

### 产品包装

试剂盒组成	RT211
10,000 $\times$ GeneRed Nucleic Acid Dye	500 $\mu$ l

### 产品简介

GeneRed 红色核酸染料是一种代替 EB 的安全核酸染料，其原理是油性大分子，不易挥发，不能穿透细胞膜进入细胞内，该染料的诱变性远小于 EB，该产品适用于各种大小片段的电泳染色，对核酸迁移的影响较小，具有高热稳定性，适用于使用微波或其它加热方法制备琼脂糖凝胶。

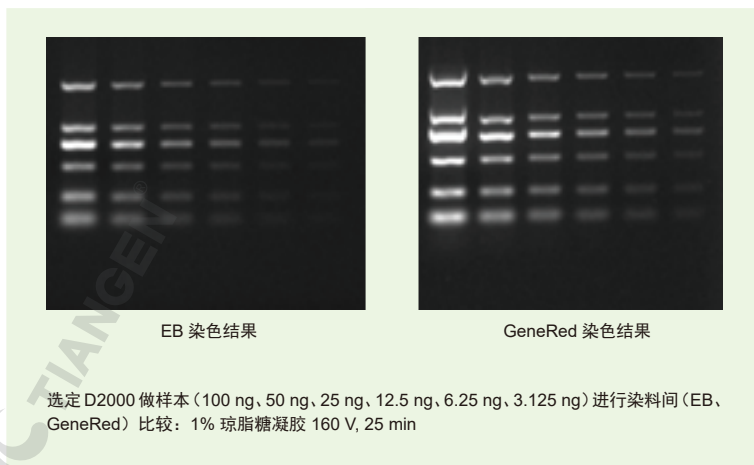
### 保存条件

2-8 $^{\circ}$ C 避光干燥保存

### 产品特点

- 安全无毒：独特的油性大分子，不易挥发，不能穿透细胞膜进入细胞内，该染料的诱变性远小于 EB。
- 灵敏度高：适用于各种大小片段的电泳染色，对核酸迁移的影响较小。
- 稳定性高：适用于使用微波或其它加热方法制备琼脂糖凝胶；室温下在酸或碱缓冲液中稳定，耐光性强。
- 信噪比高：样品荧光信号强，背景信号低。
- 操作简单：在预制胶和电泳过程中不降解，电泳染色后无需脱色或冲洗，可直接用紫外凝胶透射仪观察。
- 适用范围广：可选择电泳前染色（胶染法）或电泳后染色（泡染法）；适用于琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶电泳；可用于 dsDNA、ssDNA 或 RNA 染色。
- 与 EB 有相同的光谱特性，无需改变滤光片及观察装置：标准的 EB 滤光片或 SYBR 滤光片均适用，使用普通紫外凝胶透射仪观察即可，在 300 nm 紫外光附近可得到有效激发。

### 实验例



# dNTP 预混溶液

——高质量的脱氧核糖核苷酸

## 产品列表

目录号	产品名称	包装	价格
CD111-03	Super pure dNTPs (2.5 mM each)	5×1 ml	360 元
CD111-13	Super pure dNTPs (10 mM each)	5×1 ml	1350 元
CD111-31	Super pure dATP (100 mM)	0.5 ml	350 元
CD111-32	Super pure dGTP (100 mM)	0.5 ml	350 元
CD111-33	Super pure dCTP (100 mM)	0.5 ml	350 元
CD111-34	Super pure dTTP (100 mM)	0.5 ml	350 元
CD117-02	dNTPs (2.5 mM each)	5×1 ml	220 元
CD117-12	dNTPs (10 mM each)	5×1 ml	800 元

## 保存条件

-30~-15℃ 保存

## 产品简介

高质量的脱氧核糖核苷酸 (dNTP) 对 cDNA 合成、测序和标记等反应的成功非常重要。本产品经严格的质量检测, 不含 RNase 和 DNase。

产品类型	HPLC 纯度	适用范围
超纯 dNTP (Super Pure dNTP)	达到 99.9%	可用于要求较高的 PCR 反应 (如 RealTime PCR)、DNA 序列测定, 分子标记、cDNA 合成等
dNTP (High Pure dNTP)	达到 99%	可用于要求较高的 PCR 反应及常规 PCR 反应

## 产品组成

- 超纯 dNTP /dNTP (2.5 mM each) : 是 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 的等摩尔混合物, 可作为 DNA 聚合酶的底物使用。进行 PCR 反应时, 不用稀释即可直接使用。用于 PCR 的标准使用量是每 100 μl 反应液用 8 μl (终浓度为各 200 μM)。
- 超纯 dNTP /dNTP (10 mM each) : 是 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 的等摩尔混合物, 按实验需要, 直接用适当的缓冲液稀释即可使用。作为 PCR 反应底物时, 请用无菌超纯水稀释成适当浓度使用。

## 产品特点

- 可靠: 经过 PCR 检测的脱氧核苷酸确保使用所有 TIANGEN 公司的耐热聚合酶均有满意的结果。
- 超纯: dNTP 纯度均达到 99% 以上, 不含 DNase 和 RNase。

## 去离子水

### Deionized Water

目录号	包装	价格
RT120-02	500 ml	70 元

#### 产品介绍

TIANGEN 公司提供的去离子水是利用逆渗透技术，通过多次交换柱和滤膜去除重金属盐、细菌、有机物、内毒素等杂质后得到的超纯产品。可用于分子生物学实验、细胞培养、药物研究和仪器分析等。

#### 技术指标

电阻率 18.2 M $\Omega$ .cm ; TOC<5 ppb

内毒素 <0.001 EU/ml

## DNase/RNase-Free 去离子水

### DNase/RNase-Free Deionized Water

目录号	包装	价格
RT121-01	5 $\times$ 5 ml	90 元
RT121-02	100 ml	120 元

#### 产品介绍

超纯的去离子水通过中空纤维超滤柱达到降低热源，内毒素和核酸酶的水平，可以代替 DEPC 处理过的水使用。经检测无核酸酶和蛋白酶活性，可用于 cDNA 合成、体外转录、RNA 提取等对核酸酶敏感分子生物学实验。



# 甲基化特异性 PCR 试剂盒

## Methylation-specific PCR(MSP)Kit

—甲基化特异性 PCR 专用检测试剂盒

目录号	包装	价格
EM101-01	400 U	680 元

### 产品包装

试剂盒组成	规格
MSP DNA Polymerase (2.5 U/μl)	400 U
10×MSP PCR Buffer	1 ml
dNTPs (2.5 mM)	1 ml

### 保存条件

-30~-15℃保存

### 下游应用

■ 适用于甲基化特异性 PCR (MSP) 方法分析基因组 DNA 的甲基化特点。

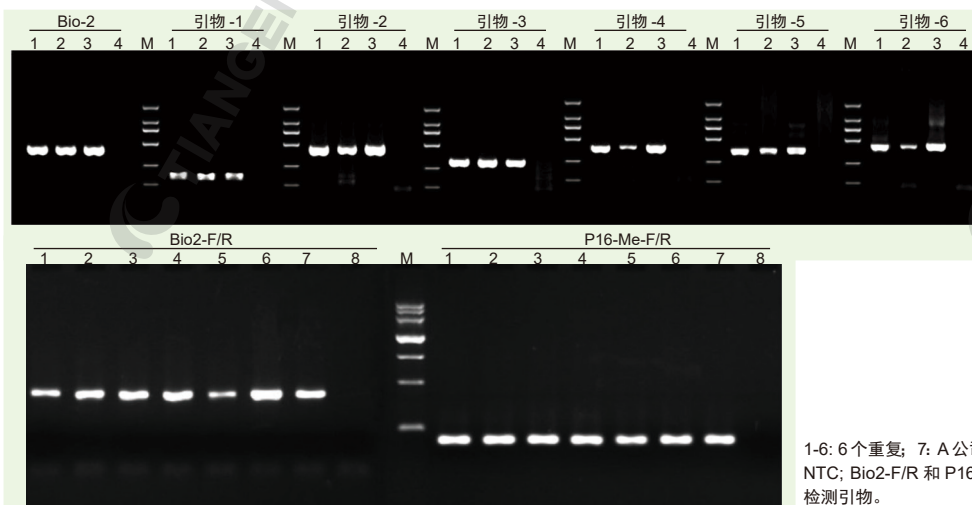
### 产品简介

本产品是特别针对通过 PCR 方法研究基因组 DNA 甲基化特点的客户所开发的试剂盒。试剂盒组分简单, 包含 MSP DNA Polymerase, 10×MSP PCR Buffer 和 dNTPs。其中, MSP DNA Polymerase 是采用抗体修饰的耐热聚合酶, 10×MSP PCR Buffer 是特别为 MSP 反应所优化的 PCR 缓冲液。适于与 TIANGEN 重亚硫酸盐处理试剂盒 (DP215-02) 搭配使用。

### 产品特点

■ 本产品具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点。

### 实验例



1. 使用甲基化特异性 PCR 试剂盒, 以重亚硫酸盐处理后的基因组 DNA 为模板, 扩增 400 bp 的片段, 反应体系为 20 μl。

反应体系配置

组成成分	体积
Template	< 500 ng
Primer 1 (10 μM)	1 μl
Primer 2 (10 μM)	1 μl
dNTPs (2.5 mM)	1.6 μl
MSP DNA Polymerase (2.5 U/μl)	1 U
10×MSP PCR Buffer	2 μl
ddH <sub>2</sub> O	补至 20 μl

2. PCR 反应循环的设置:

95℃	5 min	} 35 cycles
94℃	20 sec	
60℃	30 sec	
72℃	20 sec	
72℃	5 min	

### 注意事项

反复冻融的 DNA 模板会影响扩增, 尽量不要反复冻融 DNA 模板; 如需多次实验, 可分装后进行冻存, 减少冻融次数。

## Q&A PCR 常见问题分析

### Q 无扩增条带

#### A-1 模板

- 模板中含有杂蛋白、*Taq* 酶抑制剂等  
——纯化 DNA 模板，去除蛋白杂质或使用试剂盒提取模板 DNA。
- 模板核酸变性不彻底 ——适当提高变性温度，延长变性时间。
- 模板降解 ——重新制备模板。

#### A-2 引物

- 引物合成质量不佳 ——重新合成引物。
- 引物降解 ——高浓度小量分装保存，防止多次冻融，避免长期置于冰箱冷藏部分。
- 引物设计不合理（如引物长度不够，引物之间形成二聚体等）  
——重新设计引物（避免形成引物二聚体和二级结构）。

#### A-3 Mg<sup>2+</sup> 浓度

- Mg<sup>2+</sup> 浓度偏低  
——适当提高 Mg<sup>2+</sup> 浓度：从 1 mM 到 3 mM，间隔 0.5 mM 进行一系列反应，确定对于每个模板和引物最佳镁离子浓度。

#### A-4 退火温度

- 退火温度过高，影响引物与模板的结合  
——降低退火温度，以 2°C 为梯度进行系列摸索。

#### A-5 延伸时间

- 延伸时间短 ——增加延伸时间。

### Q 假阳性

现象：阴性样品出现的 PCR 扩增条带与目的靶序列条带一致。

#### A-1 PCR 污染

- 靶序列或扩增产物的交叉污染 ——操作时应小心轻柔，防止将含靶序列的样品吸入加样枪内或溅出离心管外；试剂或器材应高压灭菌，破坏存在的核酸，通过阴性对照实验确定污染是否存在。
- 试剂污染 ——各种试剂先进行分装，并低温贮存。

#### A-2 引物

- 引物设计不合适，选择的扩增序列与非目的扩增序列有同源性。  
——重新设计引物。

### Q 出现非特异性扩增

现象：PCR 扩增后出现的条带与预计的大小不一致，或大或小，或者有时同时出现特异性扩增带与非特异性扩增带。

#### A-1 引物

- 引物特异性差 ——重新设计引物。
- 引物浓度过高 ——适当提高变性温度，延长变性时间。

#### A-2 Mg<sup>2+</sup> 浓度

- Mg<sup>2+</sup> 浓度过高 ——适当降低 Mg<sup>2+</sup> 浓度，从 1 mM 到 3 mM，间隔 0.5 mM 进行一系列反应，确定对于每个模板和引物最佳镁离子浓度。

#### A-3 耐热聚合酶

- 酶量过多 ——以 0.5 U 为间隔适当减少酶量。

#### A-4 退火温度

- 退火温度过低 ——适当提高退火温度或采用二阶段温度法。

#### A-5 PCR 循环次数

- PCR 循环次数过多 ——减少 PCR 循环次数。

### Q 出现片状拖带或涂抹带

#### A-1 引物

- 特异性差 ——重新设计引物，改变引物的位置和长度，增强其特异性；进行巢式 PCR。

#### A-2 模板 DNA

- 模板不纯 ——纯化模板或使用试剂盒提取 DNA。

#### A-3 Mg<sup>2+</sup> 浓度

- Mg<sup>2+</sup> 浓度过高 ——适当降低 Mg<sup>2+</sup> 浓度，从 1 mM 到 3 mM，间隔 0.5 mM 进行一系列反应，确定对于每个模板和引物对的最佳镁离子浓度。

#### A-4 dNTP

- dNTP 浓度过高 ——适当降低 dNTP 浓度。

#### A-5 退火温度

- 退火温度过低 ——适当提高退火温度。

#### A-6 循环数

- 循环数过多 ——优化循环数。

### Q 50 μl PCR 反应体系中模板 DNA 的加入量？

A 人基因组 DNA	0.1-1 μg
大肠杆菌基因组 DNA	10-100 ng
λ DNA	0.5-5 ng
质粒 DNA	0.1-10 ng

### Q 如何进行长片段的扩增？

A 首先需选择适合的聚合酶。一般的 *Taq* 酶由于缺少 3'-5' 外切酶活性，不能纠正错配，而错配会大大降低片段的延伸效率，所以一般的 *Taq* 酶不能有效扩增大于 5 kb 的目的片段，应选择具有特殊修饰的 *Taq* 酶或其他高保真酶，提高延伸效率，满足长片段扩增的需求。此外，长片段的扩增还需要相应调整引物设计、变性时间、延伸时间和缓冲液 pH 等。通常 18-24 bp 的引物会得到较好的产量。为防止模板损伤，在每个循环将 94°C 变性时间减少到 30 sec 或更短，扩增前升温至 94°C 的时间应低于 1 min。此外，将延伸温度设置为 68°C 左右，按 1 kb/min 的速率设计延伸时间，能够保证有效的长片段扩增。

### Q 如何提高 PCR 扩增的保真性？

A 降低 PCR 扩增的错误率可以通过使用各种具有高保真性的 DNA 聚合酶来实现。在目前已发现的所有耐高温 DNA 聚合酶中，*Pfu* 酶的出错率低，保真度高（见附表）。除对酶进行选择，研究者也可通过优化反应条件来进一步减少 PCR 突变率，包括优化缓冲液组成、耐热聚合酶的浓度及对 PCR 循环条件进行优化等。

## 部分使用 TIANGEN PCR 产品发表的文献列表

题目	期刊	IF	使用产品	单位
The Mitochondrial Unfolded Protein Response Is Mediated Cell-Non-autonomously by Retromer-Dependent Wnt Signaling	Cell	36.216	Taq Mix	中科院遗传所
Cannabinoid CB1 receptors in the amygdalar cholecystokinin glutamatergic afferents to nucleus accumbens modulate depressive-like behavior	Nature Medicine	30.641	HotStar Taq 酶	浙江大学
Metabolic engineering of Escherichia coli for de novo biosynthesis of vitamin B12	Nature Communications	11.878	Taq Mix/DNA ladder	中科院天津工业生物技术研究所
The conserved 3' UTR-derived small RNA NarS mediates mRNA crossregulation during nitrate respiration	Nucleic Acids Research	11.147	Taq Mix II	复旦大学上海医学院
T5 exonuclease-dependent assembly offers a low-cost method for efficient cloning and site-directed mutagenesis	Nucleic Acids Research	11.147	Taq 酶 / pfu 酶	山东大学
RINT1 Bi-allelic Variations Cause Infantile-Onset Recurrent Acute Liver Failure and Skeletal Abnormalities	American Journal of Human Genetics	9.924	Taq Mix	美国罗彻斯特梅约医学中心
Downregulation of TRIM27 expression inhibits the proliferation of ovarian cancer cells in vitro and in vivo	Laboratory Investigation	3.676	RT/Taq mix	山东大学
Phylogeny and classification of the East Asian Amitostigma alliance (Orchidaceae: Orchideae) based on six DNA markers	BMC Evolutionary Biology	3.368	Taq 酶	中科院昆明植物所
Chlorogenic Acid Improves Late Diabetes through Adiponectin Receptor Signaling Pathways in db/db Mice	PLoS one	3.234	RT/PCR mix	北医三院
Identification and Characterization of a Novel Microvitellogenin from the Chinese Oak Silkworm Antheraea pernyi	PLoS one	3.234	M-MLV RT/Taq 酶 / 基因组 DNA 提取 / RNA 提取	沈阳农业大学
Association between BMP15 Gene Polymorphism and Reproduction Traits and Its Tissues Expression Characteristics in Chicken	PLoS one	3.234	PCR mix	山东农科院
Evaluation of Appropriate Reference Genes for Gene Expression Normalization during Watermelon Fruit Development	PLoS one	3.234	PCR mix/ 基因组 DNA 提取	华中农业大学
Molecular Cloning and mRNA Expression of Heat Shock Protein Genes and Their Response to Cadmium Stress in the Grasshopper Oxya chinensis	PLoS one	3.234	Taq 酶 / 胶回收	山西大学
Molecular Identification of Sibling Species of Sclerodermus (Hymenoptera: Bethyridae) That Parasitize Buprestid and Cerambycid Beetles by Using Partial Sequences of Mitochondrial DNA Cytochrome Oxidase Subunit 1 and 28S Ribosomal RNA Gene	PLoS one	3.234	Taq 酶 / 基因组 DNA 提取	中国林业科学院
Identification and Characterization of a Novel Microvitellogenin from the Chinese Oak Silkworm Antheraea pernyi	PLoS one	3.234	Taq 酶 / M-MLV RT / 基因组提取 / RNA 提取	沈阳农业大学
Genetic diversity of Plasmodium vivax population before elimination of malaria in Hainan Province, China	Malaria Journal	3.109	Taq mix / DNA marker	海南疾控中心
Overexpression of porcine lipoprotein-associated phospholipase A2 in swine	BBRC	2.297	PCR mix	吉林大学