

操作手册

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

产品名称: 2x BlueStar™ PCR Master Mix

Cat #: BSPM -100, BSPM -200

储存条件: 4°C保存

制品说明:

2x BlueStar™ PCR Master Mix是一种2倍浓缩的预混液, 内含HoTaq DNA聚合酶、反应缓冲液、MgCl₂及dNTPs。做PCR反应时, 只需再单加DNA模板和引物即可。无需担忧反复冻融对产品性能的影响。2x BlueStar™ PCR Master Mix可在4°C的条件下储存6个月, 并且产品性能不会受到影响。等分体积, 每个反应所需加入Master Mix的体积与所加入模板DNA, 引物和水总体积相同。预混的蓝色染料可帮您节省时间, 并且可将PCR反应后的样品直接上样到琼脂凝胶上, 无需再加入其它染料。

由于Master Mix含有高保真DNA聚合酶, 其不仅可用于常规克隆筛选, 并且也可用于从基因组DNA或从mRNA逆转录的cDNA的基因的克隆上。

其特性如下:

- 预先加入上样染料, 操作简单;
- 4°C条件下可保存6个月, 无需反复冻融;
- 高灵敏性、高产;
- 高保真性;
- 稳定扩增。

用途:

- 可扩增用于分子克隆的模板;
- 阳性克隆的PCR筛选;
- 可用于基因分型的终点PCR。

操作步骤:

1. 向反应体系中加入无核酸酶水; 离心管中加入下列试剂并混匀:

| 试剂 | 试剂量 (20ul反应体系) | 试剂量 (50ul反应体系) |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 模板DNA | 质粒样品: 10pg-1ng/基因组DNA样品: 0.1-1ug | 质粒样品: 10pg-1ng/基因组DNA样品: 0.1-1ug |
| 上游引物 (10uM, 终浓度为400nM) | 1ul | 2ul |
| 下游引物 (10uM, 终浓度为400nM) | 1ul | 2ul |
| ddH ₂ O | 补足到12.5ul | 补足到25ul |

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

| | | |
|-----------------------------|--------|------|
| 2x BlueStar™ PCR Master Mix | 12.5ul | 25ul |
| 终体积 | 25ul | 50ul |

2. 进行PCR反应；

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-----|----------------------|-----------|---------|
| 预变性 | 95°C | 10min. | 25-32循环 |
| 变性 | 95°C | 30sec. | |
| 退火 | 比T _m 低5°C | 30sec. | |
| 延伸 | 72°C | 30sec./kb | |
| 终延伸 | 72°C | 2min. | |
| | 4°C | 保存 | |

3. 将2ul或5ul的PCR反应液直接上样到琼脂糖凝胶上进行检测。根据下游实验需要：如果扩增片段需要进行凝胶纯化，可将剩余的PCR反应液上样到琼脂糖凝胶上。

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。