

KOD One™ PCR Master Mix

[KMM-101/201]

保存条件：-20℃

产品介绍

该产品是以改良型KOD DNA polymerase (UKOD) 为基础开发的 2x Master Mix，只需加入模板、引物和水即可进行PCR反应。除了兼具保真性好和扩增效率高的特点，扩增速度也是本公司同类产品中最快的，常规扩增1kb以内的片段延伸时间仅需1秒。

推荐的反应体系

组分	体积	终浓度
灭菌水	X μ l	
KOD One™ PCR Master Mix	25 μ l	1×
引物 (10 μ M each)	1.5 μ l	0.3 μ M each
模板	Y μ l	Genomic DNA \leq 200 ng Plasmid DNA \leq 50 ng cDNA (RNA相当量) \leq 750 ng 活体样本·粗抽提液 \leq 5 μ l
总体积	50 μ l	

*1: 引物浓度推荐为0.3 μ M (终浓度)，但扩增10 kb以上的长片段时，引物浓度为0.15 μ M (终浓度) 时可提高扩增产物量。另外，检测灵敏度较差时，将引物浓度提高至0.5 μ M (终浓度) 可能会有改善。

*2: 模板量建议设置在上述样品添加量以下，更详细说明请参考电子版说明书。

*3: 总体积不是50ul时请等比例调整各组分的添加量。

推荐的反应条件

为验证合适的退火温度，推荐使用三步法循环：

变性	98 °C, 10 sec.	} 25~45 cycles
退火	(T _m - 5) °C, 5 sec.	
延伸	68 °C, 1 ~10 sec./ kb	

* 循环前的预变性 (94 °C, 2 min) 为可选步骤，扩增效果较差时请考虑增加此步。

* 退火 (Annealing) 温度请按引物的 T_m - 5 °C 进行设定。T_m - 5 °C 超过68 °C时，请按68 °C设定。

* DNA变性 (Denaturation) 推荐98 °C, 10 sec.。94 °C进行变性时，请设为15 sec.。

延伸时间请根据目的片段长度参考以下方法进行设定：

目的片段长度	建议延伸时间
1 kb以下	1 sec.*1
1~10 kb	5 sec./ kb*2
10 kb	10 sec./ kb

*1: 有些PCR仪器可能无法设定为1 sec.的延伸时间。扩增量少时，请设定为5 sec.。

*2: 如果模板起始量较少或用粗样品进行扩增时，请按10 sec./kb进行设定。

三步法循环有非特异性条带或弥散时，请尝试**两步法**或**Step down方法**。可能会提高扩增特异性和检测灵敏度。

<两步法>

变性	98 °C, 10 sec.	25~45
延伸	68 °C, 5 ~10 sec./ kb	cycles

<Step down方法>

变性	98 °C, 10 sec.	5 cycles
延伸	74 °C, 5 ~10 sec./ kb	
变性	98 °C, 10 sec.	5 cycles
延伸	72 °C, 5 ~10 sec./ kb	
变性	98 °C, 10 sec.	5 cycles
延伸	70 °C, 5 ~10 sec./ kb	
变性	98 °C, 10 sec.	15~30
延伸	68 °C, 5 ~10 sec./ kb	cycles

* 循环前的预变性（94 °C, 2 min）为可选步骤，扩增效果较差时请考虑增加此步。

* 进行两步法或Step down方法时，延伸时间请参考三步法进行设定，目的片段长度在1 kb以下时，请设定为5 sec.。

* 引物T_m值大于72 °C时推荐用两步法， Step down方法使用的延伸温度请参考三步法进行设定。

注意事项

1. 使用组织样本直接进行扩增的处理方法请参考电子版说明书。
2. 请尽量使用长度在22~35个碱基（T_m值>63°C）的引物，GC含量在45~60%。
3. 出现无扩增、非特异扩增等情况时，请调整引物模板用量以及反应条件进行摸索。
4. 进行TA克隆需要使用专门的试剂盒Target Clone™ -Plus-（货号：TAK-201）。

TOYOBO 东洋纺（上海）生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路500号华润时代广场28楼AL单元

邮编：200122

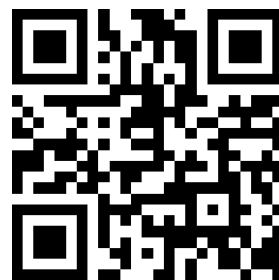
订货·技术相关咨询

TEL: 021-58794900 FAX: 021-58794901

E-mail: tech@bio-toyobo.cn



[URL] <http://www.bio-toyobo.cn>



扫码查看电子版说明书