产品组分

组分名称	组分编号	规格 1 1 mL	规格 2 5 mL	规格 3 100 mL
PowerPol 2X PCR Mix	RM20387	1 mL	1 mL × 5	1 mL × 100

产品说明

PowerPol 2X PCR Mix 是经过优化的预混液，包含有 DNA 聚合酶、dNTPs、$MgCl_2$、KCl 和其他稳定剂等，只需加入模板和引物即可进行扩增，扩增产物为平末端。

本产品可以以复杂的基因组 DNA 为模板扩增 5 kb 长度的目的片段或以 lambda DNA 等简单模板扩增 10 kb 长度的目的片段。本产品具有一定的保真度，可以用于遗传标记分型、植物转基因鉴定、载体构建等应用。

保存温度

-20℃

保真度

6X *Taq*

热失活

否

操作说明

标准操作

1. 推荐将所有的反应组分在冰上配制，然后快速将反应体系转移到预热到 98℃ 的 PCR 仪中。
2. 推荐的 PCR 反应如下：

PCR 反应体系

组分	25 μL	50 μL	终浓度
PowerPol 2X PCR Mix	12.5 μL	25 μL	1X
上游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
下游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
Nuclease-free Water	to 25 μL	to 50 μL	N/A

*，注：不同 DNA 模板最佳反应浓度不同，可参考 PCR 基本原则。

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	45 s*	1
变性	98℃	10 s	30
退火	55-65℃	30 s	
延伸	72℃	20-30 s/kb	
终延伸	72℃	5 min	1
Hold	4-12℃	-	1

*，注：对复杂的模板，例如高 GC 序列，可以延长预变性时间到 3 min 以充分变性。

PCR基本原则

1. 模板

使用高质量纯化的 DNA 模板将增加 PCR 的成功率，在 50 μL 反应体系中推荐加入的 DNA 模板量如下：

DNA 类型	模板量
植物，动物及人基因组 DNA	10 ng-100 ng
Ecoli DNA，lambda DNA	10 pg-200 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng

注意：如果 DNA 模板是从 cDNA 合成反应中获得的，则添加的体积应小于总反应体积的 10%。若扩增长片段，可适当增加模板投入量。

2. 引物

寡核苷酸引物长度通常是 20-40 nt，理想 GC 含量 40-60%。可以使用软件例如 Primer 3 设计和分析引物。PCR 反应体系中每条引物的终浓度可以在 0.1-1 μM 范围内调整，一般使用 0.2 μM。

3. 变性

98℃ 预变性 45 s 对大多数纯化的 DNA 模板能充分变性，对复杂的模板，例如高 GC 序列，可以延长预变性时间到 3 min 以充分变性。在扩增循环中，对大多数 DNA 模板推荐的变性条件是 98℃ 5-10 s。

4. 退火

PowerPol 2X PCR Mix 中聚合酶的退火温度往往高于其他 PCR 聚合酶。通常，可以默认退火温度为 60℃；对大于 20 nt 的引物，按(较低引物 Tm+3)℃ 进行退火 10-30 s；对小于 20 nt 的引物，则应采用与较低引物 Tm 相当的退火温度。使用新的引物对进行扩增时，建议温度梯度试验确定最优的退火温度。若使用两步法进行扩增循环，温度梯度可以设置为与延伸温度相同。

5. 延伸

推荐延伸温度为 72℃，延伸时间取决于扩增基因的长度和复杂程度。通常可以按 10-30 s/kb 速度进行延伸。延伸时间对于简单模板如 *Ecoli*、Lambda 在 10 s/kb 左右；对于较为复杂的模板可以适当延长延伸时间在 20-30 s/kb 左右。对于复杂的扩增子，如基因组 DNA，建议按 1 min/kb 速度进行延伸。对于 cDNA 模板，延伸速度为 1 min/kb。

6. 循环数

通常进行 25-35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。