Version：AF 6.0（2025.01.02修订）

2×Spark Taq PCR Master Mix

目录号：AF0102、AF0103

01/产品组分

	AF0102-A	AF0102-B	AF0102-C	AF0103-A	AF0103-B
2×Spark Taq PCR Master Mix	1 mL	1 mL×5	1 mL×50	1 mL	1 mL×5
ddH_2O	1 mL	1 mL×5	1 mL×50	1 mL	1 mL×5
染料	+	+	+	-	-

02/保存条件

本产品组分-20℃保存。

03/产品概述

本产品为即用型 2 倍浓度的 PCR 预混液，含有优化浓度的 Spark Taq DNA 聚合酶、dNTPs、Mg^{2+}、反应缓冲液、PCR 反应增强剂及稳定剂等成分。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好、适用性广等优点，使用时只需加入模板和引物，并用水补足体积，最大程度减少了人为误差、节约时间、降低污染机率。

本产品适用于常规 PCR 反应和大规模基因检测，对 GC 含量高、二级结构复杂的片段及长片段适用性广、扩增能力强，PCR 反应产物 3'末端带 A 尾，纯化后可用于 TA 克隆。

本产品提供含染料和无染料的版本，使用不含染料的产品在 PCR 反应完成后，需要添加上样缓冲液之后才能上样电泳。

04/质量控制

经检测无外源核酸酶活性。

05/适用范围

DNA 扩增和一些有特殊结构、GC 含量高（>60%）等复杂模板的扩增：DNA 片段的 PCR 扩增、DNA 标记、引物延伸、序列测定等。PCR 产物末端带 A，纯化后可直接用于 TA 克隆。

06/实验流程

反应体系

以 25 μL，50 μL 反应体系为例，按照下表配置 PCR 反应体系，各组分解冻后请充分混匀后使用，所有 PCR 操作过程应在冰上进行，用完后请及时放回-20℃保存。

Components	Volume	Volume	Final Concentration
Template	X μL	Y μL	-
Forward Primer（10 μM）	2 μL	1 μL	0.4 μM
Reverse Primer（10 μM）	2 μL	1 μL	0.4 μM
2×Spark Taq PCR Master Mix	25 μL	12.5 μL	1×
ddH_2O	up to 50 μL	up to 25 μL	-

▲PCR反应体系中，不同模板的最佳反应浓度有所不同，50 μL体系推荐模板使用量如下：

模板种类	模板使用量
质粒或病毒DNA	1-30 ng
基因组DNA	50-500 ng
cDNA	1-5 μL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

反应程序

95℃：	3 min	
95℃：	15 sec	30-35 cycles
Tm：	15 sec	
72℃：	15-30 s/kb	
72℃：	5 min	

▲退火温度需根据引物的 Tm 值进行调整，若有需要，可通过退火温度梯度 PCR 寻找引物与模板结合的最佳退火温度。

▲不同种类的模板选择合适的延伸时间有助于提高 PCR 扩增产量，如：对于质粒等简单模板，延伸速度可设定为 15 s/kb；对于基因组或 cDNA 模板，延伸速度可设定为 15-30 s/kb；对于高 GC、具有二级结构或其他复杂模板，建议延伸时间为 30 s/kb。

▲以上举例为常规 PCR 反应程序，仅供参考。对于 1kb 以内的片段，极限扩增速度可设置为 1 s/kb，实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件。

07/结果检测

反应结束后取 5 μL 反应产物，在适合浓度的琼脂糖凝胶上进行电泳检测。如果 PCR 产品中含染料，扩增后的产物不需加上样缓冲液，可直接进行电泳。

08/相关产品

AK0503　Spark Zero Background pTOPO-TA/Blunt Cloning Kit

AJ0101　Spark 2000 DNA Marker

AJ0201　Spark 6×DNA Loading Buffer（双染料）

AJ0208　Spark GoldView

AE0101　胶回收/PCR 产物纯化试剂盒

AD0102　SPARKeasy 高纯质粒小量快速提取试剂盒