ApexHF HS DNA聚合酶预混液- CL

ApexHF HS DNA Polymerase CL Master Mix

Code No. AG12209

包装量：	100 rxns / 50 μl
保存温度：	−20 ℃

➢ 产品概述

本产品是 *ApexHF* HS DNA Polymerase CL 即用型的 2 倍浓度 PCR 反应预混液。进行 PCR 反应时，只需向预混液中加入模板、引物和水即可进行扩增。这种预混液方案操作简便，可最大限度地减少人为误差，在较短时间内即可获得检测结果。本产品对简单或复杂模板、短片段或长片段 PCR 扩增都具有良好的适应性，特别适用于长片段 PCR 扩增，同时，对于高 GC 含量、高 AT 含量及低起始量的模板都能进行有效的扩增。此外，本产品中还添加了在常温状态下能够抑制 DNA polymerase 活性的单克隆抗体，可以进行 Hot Start PCR，有效的抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

➢ 保存及运输

保存温度：−20℃保存

运输温度：干冰运输或−20℃冰袋运输

➢ 产品组成

2X *ApexHF* CL PCR Master Mix	850 μl X 3 pcs

➢ 实验操作

反应体系（50 μl）

组分名称	反应终浓度	加入量
2X *ApexHF* CL PCR Master Mix*1	1X	25 μl
Template	≤ 500 ng*2	−
Primer F(10 μM)	0.2 μM*3	1 μl
Primer R(10 μM)	0.2 μM*3	1 μl
RNase free water	−	Up to 50 μl

*1：该溶液要避免反复冻融，使用前先离心，将所有的溶液收集至离心管底部，然后再进行使用，减少损失；使用时应轻柔混匀（避免起泡），缓慢吸取。

*2：通常模板添加量不高于 500 ng，可获得良好的扩增效果。若以 cDNA 为模板时，建议不高于 250 ng (模板量相当于 Total RNA 的量)。

*3：引物通常使用终浓度为 0.2 μM，可根据实验结果在 0.1 ~ 0.4 μM 范围内调整。

反应条件（以三步法 PCR 扩增为例*9）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	1 min*4	
变性	98℃	10 sec*5	25~35
退火	55℃ or 60℃*6	5 sec	
延伸	68℃*8	30 sec/ kb*7	

*4：对于普通模板，可省略预变性步骤；对于复杂模板，如高 GC 或者长片段，建议将预变性设置为 94℃ 30 sec ~ 2 min。

*5：变性条件的设定可根据设备进行调整，一般 94℃ 10 ~ 15 sec，98℃ 5 ~ 10 sec。

*6：一般建议 Tm 值高于 55℃ 时，退火温度设置为 60℃；Tm 值低于 55℃ 时，退火温度设置为 55℃。也可根据实际情况进行调整。

*7：延伸速度一般设置为 30 sec / kb，可根据实际情况在 10 sec ~ 1 min / kb 内进行调整。片段小于 10 kb，可在 10 sec ~ 30 sec / kb 内进行调整，片段大于 10 kb，可在 30 sec ~ 1 min / kb 内进行调整。若是粗提样品，建议将延伸速度设置为 1 min / kb。

*8：两步法 PCR 与三步法 PCR，延伸温度都可以设置为 68℃。

*9：当引物 Tm 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好，可尝试两步法 PCR 扩增（两步法 PCR 反应程序可参考附录）

➢ 结果检测

反应结束后，取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

➢ 附录：两步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	1 min	1
变性	98℃	10 sec	25~35
延伸	68℃	30 sec/ kb	

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.