

AdeptTect 快速 HS PCR 预混液 (含染料)

AdeptTect Flash HS PCR Master Mix (dye plus)

Code No. AG12301

包装量: 120 rxns / 50 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

AdeptTect Flash HS PCR Master Mix 是适用于快速 PCR 反应的 2 倍浓度预混型制品, 具有高扩增效率、高灵敏度、高特异性、高退火效率及延伸速度快等特点; 使用本制品时, 只需要在溶液中加入模板、引物和水便可以进行 PCR 反应; 同时, 本制品中含有电泳所必需的色素试剂 (蓝色和黄色色素), 反应液呈现鲜艳的绿色, PCR 反应后可直接进行电泳, 操作便捷, 可最大限度地减少人为误差, 并在较短时间内即可获得检测结果。此外, 本制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, 有效抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

本制品扩增得到的产物 3' 端不含 A 碱基, 因此不可用于 TA 克隆。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

运输温度: 干冰或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋

产品组成

2X Flash HS PCR Master Mix (dye plus)^{*1} 500 μ l x 6 pc

*1: 使用时, 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。

实验操作

反应体系 (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Flash HS PCR Master Mix (dye plus)	1 x	25 μ l
Primer F (10 μ M) ^{*1}	0.2 μ M	1 μ l
Primer R (10 μ M) ^{*1}	0.2 μ M	1 μ l
Template ^{*2}	< 200 ng	-
RNase free water		Up to 50 μ l

*1: 通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好的结果, 也可根据具体实验情况在 0.1 - 0.4 μ M 范围内调整引物浓度。

*2: 通常情况下, 建议模板添加量 < 200 ng; 若扩增效果不好, 可尝试延长 PCR 反应延伸时间, 可在 5 ~ 60 sec / kb 内进行调整。

反应程序 (以 3 Step PCR 扩增为例^{*5})

Step	温度	时间	Cycles
预变性 ^{*1}	94 $^{\circ}$ C	1 min	1
变性 ^{*2}	98 $^{\circ}$ C	5 sec	} 30-35
退火 ^{*3}	55 $^{\circ}$ C	5 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	5 sec / kb ^{*4}	



*1: 对于普通模板, 可省略预变性步骤; 对于复杂模板, 建议将预变性设置为 94°C 30 sec~1 min。

*2: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般94°C 20-30 sec, 98°C 5-10 sec。

*3: 退火温度主要取决于上下游引物的T_m值, 通常可按照 T_m ± 5°C 设定。

*4: 扩增10 kb 以下 DNA 片段建议延伸时间为5 sec / kb; 10 kb 以上 DNA 片段建议延伸时间为10 sec / kb; 若片段过长、模板复杂或模板量过多导致的扩增效果不好, 可尝试将延伸时间延长至 10-60 sec / kb 。

*5: 当引物T_m值较高或 3 Step PCR扩增结果不好, 也可尝试 2 Step PCR 扩增 (2 Step 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)

Step	温度	时间	Cycles
预变性	94°C	1 min	1
变性	98°C	5 sec	} 30-35
延伸	68°C	5 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.