

Version 1

AdeptTect 快速 HS PCR预混液(含染料)-I

AdeptTect Speed HS PCR Master Mix (dye plus) I

Code No. AG12302

包装量: 120 rxns / 50 µ l 保存温度: −20 °C

▶ 产品概述

AdeptTect Speed HS PCR Master Mix (dye plus) I 是适用于快速 PCR 反应的2 倍浓度预混型制品,延伸速度可达10 sec / kb; 本制品扩增性能强,适用于复杂模板的扩增,可扩出长达10 kb的DNA片段扩增;使用时,只需要在溶液中加入模板、引物和水即可进行PCR反应;同时本制品中还加入了电泳检测时所需的色素试剂,试剂呈现紫红色,PCR反应完毕后可以直接进行琼脂糖凝胶电泳;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,因此不可直接用于TA克隆。

▶ 保存

保存温度: -20 ℃

运输温度:干冰运输或者-20℃冰袋运输

▶ 产品组成

2X Speed HS PCR Master Mix (dye plus) I $500 \,\mu$ I x 6 pc

> 实验操作

反应体系*1(50 ul)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Speed HS PCR Master Mix (dye plus) ${\rm I}^{\star 2}$	1 x	25 µ l
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M* ³	1μΙ
Primer R (10 µ M)	0.2 μ M* ³	1μΙ
Template	≤ 500 ng*4	-
RNase free water		Up to 50 µ I

- *1: 为了获得更好的扩增特异性,建议在冰上配制反应液。
- *2: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。
- *3: 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。
- *4: 通常情况下,建议模板添加量≤ 500 ng,可根据实际情况进行调整。

反应程序(以三步法PCR 扩增为例*9)

步骤	温度	时间		循环数
预变性*5	94°C	1 min		1
变性*6	98℃	10 sec	}	30-35
退火* ⁷	55℃	5 sec		
延伸*8	72℃	10 sec / kb		
最终延伸	72℃	2 min		1



Accurate Biotechnology (Hunan) Co., Ltd

- *5: 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℃30 sec~1 min。
- *6: 变性条件的设定可根据设备进行调整, 一般94℃ 20~30 sec, 98℃ 5~10 sec。
- *7: 退火温度主要取决于上下游引物的Tm值,通常可按照 Tm±5℃设定,退火时间可在5 sec~30 sec范围内调整。
- *8: 扩增 5 kb 以下 DNA 片段建议延伸时间为10 sec / kb; 扩增 5 kb 以上的DNA 片段或复杂模板,延伸速度可在10~60 sec / kb范围内调整。
- *9: 当引物Tm值较高或三步法 PCR扩增结果不好,也可尝试 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

(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	}	30-35
延伸	68°C	10 sec / kb		