ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FCL

ApexHF HS DNA Polymerase FCL Master Mix

Code No. AG12211

包装量： 100 rxns
保存温度： −20 ℃

➢ 产品概述

ApexHF HS DNA Polymerase FCL Master Mix 是优化后的兼顾扩增成功率和扩增速度的 2 倍浓度高保真酶预混液。本产品具有高扩增效率、高特异性、高保真性、高退火效率及快速扩增等特点，2 kb 以内片段扩增速度最快可达 1 sec / kb，最长可扩增 ~40 kb 的 DNA 片段，同时对高 GC、高 AT 含量及低起始量的模板都能进行有效的扩增，只需向预混液中加入模板和引物即可进行扩增，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。

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

➢ 注意事项

1. 使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部减少损失，并用移液枪轻轻吸打混匀后再使用，过程中尽量避免起泡，使用时建议放于冰盒内，使用完后建议尽快置于 −20℃ 保存。
2. 反应体系需要在冰上配制，最后将配制好的反应液放置于 PCR 仪中反应。

➢ 产品组成

ApexHF HS DNA Polymerase FCL Master Mix	850 μl X 3 pcs

➢ 实验操作

1. 配制反应体系

首先按照下表所示配制 PCR 反应液：

组分名称	反应终浓度	50 μl 体系
ApexHF HS DNA Polymerase FCL 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。

2. 反应条件（以三步法 PCR 扩增为例[*7]）

配制完反应液后，按照下表条件进行 PCR 反应：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94℃	1 min[*1]	1
变性[*2]	98℃	10 sec	30 ~ 35[*6]
退火	55℃ or 60℃[*3]	15 sec	
延伸[*5]	68℃	–[*4]	

*1：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。

*2：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。

*3：一般建议 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，如扩增产量低可尝试降低退火温度，扩增特异性差可适当提升退火温度或者使用两步法扩增。

*4：延伸时间可以根据需求进行调整：6 kb 以内片段延伸速度为 5 sec / kb，如追求更快速度，2 kb 以内可尝试 1 sec / kb；6 ~ 10 kb 片段延伸速度为 10 sec / kb；10 kb 以上片段延伸速度为 20 ~ 30 sec / kb；较复杂片段（如 GC 含量较高、粗裂模板）、模板量较低或者扩增结果不理想时建议延长延伸时间。

*5：两步法 PCR 与三步法 PCR，延伸温度都可以设置为 68℃。

*6：一般推荐使用 30 个循环进行扩增，若扩增条带较弱，可尝试增加循环数至 35 个循环。

*7：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 2 ~ 5 μl PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测产物浓度及特异性。

➢ 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	30 ~ 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.