

# ApexHF HS DNA聚合酶预混液 - CL(含染料)

ApexHFHS DNA Polymerase CL Master Mix (dye plus)

Code No. AG12210

<b>包装量:</b>	500 $\mu$ l x 5 pcs 100 rxns / 50 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-20 $^{\circ}$ C

## 产品概述

本制品是 ApexHFHS DNA Polymerase CL 即用型的 2 倍浓度 PCR 反应预混液。本制品中含有电泳所必需的色素试剂，制品溶液呈现紫红色；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，反应完成后可直接进行琼脂糖凝胶电泳。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。本制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，有效的抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

## 保存

保存温度：-20 $^{\circ}$ C

运输温度：干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

## 产品组成

2X ApexHF CL PCR Master Mix (dye plus)	500 $\mu$ l x 5 pcs
--	---------------------

## 实验操作

反应体系 (50  $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X ApexHF CL PCR Master Mix (dye plus) <sup>*1</sup>	1X	25 $\mu$ l
Template	$\leq$ 500 ng <sup>*2</sup>	-
Primer F(10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>*3</sup>	1 $\mu$ l
Primer R(10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>*3</sup>	1 $\mu$ l
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

\*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  $\mu$  M，可根据实验结果在 0.1~0.4  $\mu$  M 范围内调整。

反应条件（以三步法 PCR 扩增为例<sup>6</sup>）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min <sup>*1</sup>	} 25-35
变性 <sup>*2</sup>	98°C	10 sec	
退火	55°C or 60°C <sup>*3</sup>	5 sec	
延伸	68°C <sup>*5</sup>	30 sec / kb <sup>*4</sup>	

\*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°C 30 sec ~ 2 min。

\*2: 变性条件的设定可根据设备进行调整，一般 94°C 10 ~ 15 sec, 98°C 5 ~ 10 sec。

\*3: 一般建议 Tm 值高于 55°C 时，退火温度设置为 60°C；Tm 值低于 55°C 时，退火温度设置为 55°C。也可根据实际情况进行调整。

\*4: 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。

\*5: 两步法 PCR 与三步法 PCR，延伸温度都可以设置为 68°C。

\*6: 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）

反应条件（两步法程序）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min	1
变性	98°C	10 sec	} 25-35
延伸	68°C	30 sec / kb	

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://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.