

ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FCL (含染料)

ApexHFHS DNA Polymerase FCL Master Mix (dye plus)

Code No. AG12212

包装量: 100 rxns
保存温度: -20 °C

产品概述

ApexHFHS DNA Polymerase FCL Master Mix (dye plus) 是优化后的兼顾扩增成功率及扩增速度的 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; 本产品中含有电泳所必需的色素试剂, 进行 PCR 反应时, 只需向预混液中加入模板和引物即可进行扩增, 反应完成后可直接进行琼脂糖凝胶电泳, 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°C 保存

运输温度: 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

注意事项

- 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, 并用移液枪轻轻拍打混匀后再使用, 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°C 保存。
- 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

ApexHFHS DNA Polymerase FCL Master Mix (dye plus) 500 μ l $\times$ 5 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 μ l 体系
ApexHFHS DNA Polymerase FCL Master Mix (dye plus)*1	1X	25 μ l
Template	≤ 500 ng*2	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M*3	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M*3	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ 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 μ M, 可根据实验结果在 0.1 ~ 0.4 μ M 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°C	1 min ^{*1}	1
变性 ^{*2}	98°C	10 sec	} 30 ~ 35 ^{*6}
退火	55°C or 60°C ^{*3}	15 sec	
延伸 ^{*5}	68°C	— ^{*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°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 T_m 值高于 55°C 时，退火温度设置为 60°C；T_m 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，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：2kb 以内片段延伸速度为 1 sec / kb，2~6kb 片段延伸速度为 5 sec / kb，6~10kb 片段延伸速度为 10 sec / kb，10kb 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°C。

*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 T_m 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°C	1 min	1
变性	98°C	10 sec	} 30 ~ 35
延伸	68°C	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.