

ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FS

ApexHFHS DNA Polymerase FS Master Mix

Code No. AG12202

包装量: 100 rxns / 50 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

本制品是 ApexHF HS DNA Polymerase FS 即用型的 2 倍浓度 PCR 反应预混液。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。这种预混液方案操作简便，在常温下即可快速配置反应液，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，可进行快速 PCR 反应。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。

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 FS PCR Master Mix*	500 μ l X 5pc
------------------------------	-------------------

*: 2X ApexHF FS PCR Master Mix 中的 Mg²⁺ 浓度为 2 mM, dNTPs 的浓度为 400 μ M。

实验操作

反应体系 (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X ApexHF FS PCR Master Mix ^{*1}	1X	25 μ l
Template	\leq 200 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: 2X ApexHF FS PCR Master Mix 使用前先离心，将所有的酶液收集至离心管底部，然后再进行使用，减少损失；酶保存液中甘油浓度较高，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 200 ng（以 cDNA 为模板时，模板量相当于 Total RNA 的量）。若模板量高于 200 ng，扩增效果不好时，可尝试延长 PCR 反应延伸时间，可在 10 ~ 60 sec / kb 内进行调整。

*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。


反应条件（以三步法 PCR 扩增为例¹⁵）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	30 sec ^{*1}	1
变性	98°C	10 sec ^{*2}	} 25 ~ 35
退火	55°C	5 or 15 sec ^{*3}	
延伸	72°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 10 ~ 15 sec，98°C 5 ~ 10 sec。

*3: 退火时间一般推荐 5 sec 或 15 sec，过长可能会导致 smear 带产生。T_m 值高于 55°C 时，退火时间可设为 5 sec；T_m 值低于 55°C 时，退火时间可设为 15 sec（可在 5 sec ~ 15 sec 之间调整）。

*4: 延伸速度：一般延伸速度设置为 5 sec / kb，可获得良好的扩增结果；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。

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.

➤ 附录
两步法 PCR 反应程序：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	30 sec	1
变性	98°C	10 sec	} 25 ~ 35
延伸	68°C	5 sec / kb	