

ApexHF HS DNA聚合酶预混液-FS(含染料)

ApexHFHS DNA Polymerase FS Master Mix (dye plus)

Code No. AG12206

包装量: 100 rxns / 50 μ l
保存温度: -20°C

产品概述

本制品是 ApexHFHS 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、引物和水即可进行扩增；同时本制品中还加入了电泳检测时所需的色素试剂（浅紫红色），PCR 反应完后可以直接进行凝胶电泳，反应液呈现紫红色。这种预混液方案操作简便，可最大限度地减少人为误差，并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°C

运输温度：干冰运输或-20°C冰袋运输

产品组成

2X ApexHF FS PCR Master Mix (dye plus)* 500 μ l X 5 pc

*：溶液中的 Mg^{2+} 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 (dye plus) *1	1X	25 μ l
Template	≤ 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 (dye plus) 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 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，PCR 扩增效果不好时，可尝试延长延伸时间，可在 5 ~ 60 sec / kb 内调整。

*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^{*5}）

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，退火时间设为 5 sec；T_m 值低于 55°C 时，退火时间设为 15 sec（可在 5 ~ 15 sec 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，取适量反应产物直接进行琼脂糖凝胶电泳检测。

➤ 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	

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.