



ApexHF HS DNA 聚合酶预混液-FL(含染料)

ApexHFHS DNA Polymerase FL Master Mix (dye plus)

Code No. AG12208

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

➤ 产品概述

本制品是ApexHFHS DNA Polymerase FL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），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。本制品非常适合长片段的扩增，以Human gDNA为模板，可扩增长达27 kb的DNA片段；同时，具有保真性高、扩增效率高、退火效率高及延伸速度快等特点。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 FL PCR Master Mix(dye plus)* 500 μ l X 5pc

➤ 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 FL PCR 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: 2X ApexHF FL 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: 通常模板添加量少于500 ng，可获得良好的扩增效果。若以cDNA为模板时，建议少于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。

反应条件（以三步法PCR扩增为例⁸）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ⁴	1
变性	98°C	10 sec ⁵	} 25-35
退火	55°C or 60°C ⁶	15 sec	
延伸	68°C	30 sec/ kb ⁷	

*4: 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。

*5: 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。

*6: 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。

*7: 延伸速度一般设置为30 sec/ kb, 可根据实际情况在5 sec ~ 1 min / kb内进行调整。片段≤10 kb, 可在5 ~30 sec / kb调整; 片段≥10 kb, 可在30 sec~ 1 min / kb调整。两步法PCR和 三步法PCR, 延伸温度都可以设置为 68°C。

*8: 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。

附录（两步法反应程序）
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

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.