

HB190221

## 2×Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart PCR Master Mix (With Dye)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
2×Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart PCR Master Mix (With Dye)	10111ES03	1 mL
2×Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart PCR Master Mix (With Dye)	10111ES08	5×1 mL

### 产品描述

2×Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart PCR Master Mix (With Dye)是即用型的 PCR 预混合溶液, 含有 Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase, dNTP 以及优化的缓冲体系, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 大大简化了实验的操作步骤, 提高了高通量操作和实验结果的重现性。Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase 是 Hieff UNICON<sup>®</sup> Taq 抗体和 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 的混合产品。Hieff UNICON<sup>®</sup> Taq 抗体与 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 具有很高的亲和力, 高温 50℃处理 30 min, 依旧可以封闭 Hieff<sup>®</sup> Taq DNA Polymerase 的活性。Hieff UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase 在预变性温度下加热 30 sec 完全失活, 释放出 DNA 聚合酶活性。使用该热启动 taq 酶可以有效抑制引物非特异性退火导致的扩增。

预混液中已加入电泳缓冲液和染料, 使得 PCR 产物可以直接进行电泳, 染料的存在不会干扰扩增效率。PCR 产物具有 3'-dA 突出端, 可轻松克隆至 T 载体。

### 产品应用

低拷贝基因扩增、基因型鉴定、菌落 PCR

### 质量控制

**核酸外切酶残留检测:** 20 μL 本品和 0.6 μg λDNA -HindIII, 37℃下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

**核酸内切酶残留检测:** 20 μL 本品和 1 μg λDNA, 37℃温育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

**大肠杆菌残留 DNA 检测:** 50 μL 体系中, 加入 25 μL 本品, 以无菌 ddH<sub>2</sub>O 为模板, 扩增 E.coil 16s rDNA 基因。30 个循环后扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 无扩增条带。

### 运输与保存方法

冰袋运输。-20℃保存。有效期 2 年。

### 注意事项

为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

## PCR 反应体系 (50 $\mu$ L)

组分	体积	终浓度
ddH <sub>2</sub> O	to 50 $\mu$ L	-
模板 DNA	适量	-
Primer 正向 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Primer 反向 (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
2 $\times$ Hieff UNICON <sup>®</sup> HotStart PCR Master Mix (With Dye)	25 $\mu$ L	1 $\times$

**【注】:** 针对不同模板的最佳反应浓度有所不同, 下表为 50  $\mu$ L 反应体系推荐模板使用量, 仅供参考。

模板种类	模板使用量
基因组 DNA	50 ng-200 ng
质粒 DNA	100 pg-20 ng
cDNA	1-5 $\mu$ L (不超过反应体系的 1/10)

## PCR 扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	30 sec	} 35
退火	50-60 $^{\circ}$ C	30 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 sec/kb	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	10 min	1

**【注】:** 1) **退火温度和时间:** 温度推荐使用 50-60 $^{\circ}$ C。退火温度过低会导致非特异性扩增。引物设计参考荧光定量引物标准。

推荐退火时间设置为 30 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。也可根据需要, 设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度和时间。

2) **延伸温度和时间:** 温度推荐使用 72 $^{\circ}$ C。时间推荐使用 30 sec/kb。

3) **扩增产物:** 请将 PCR 扩增产物放置于-20 $^{\circ}$ C 保存, 防止 DNA 发生降解。