

HB190221

2×Hieff UNICON[®] HotStart PCR Master Mix (No dye)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
2×Hieff UNICON [®] HotStart PCR Master Mix (No Dye)	10112ES03	1 mL
2×Hieff UNICON [®] HotStart PCR Master Mix (No Dye)	10112ES08	5×1 mL

产品描述

2×Hieff UNICON[®] HotStart PCR Master Mix (No Dye)是即用型的 PCR 预混合溶液, 含有 Hieff UNICON[®] 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, 可以高通量操作并提高实验结果的重现性。Hieff UNICON[®] HotStart DNA Polymerase 的激活时间只需要 2-3 min, 兼容现有的 PCR 程序。本产品防止了在样品准备阶段产生非特异扩增, 可以有效地进行基因克隆和分型实验。PCR 产物具有 3'-dA 突出端, 可轻松克隆至 T 载体。预混液中不含染料。

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-Hind III, 37°C 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°C 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 ddH₂O 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°C 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 μ L)

组分	体积	终浓度
ddH ₂ O	to 50 μ L	-
模板 DNA	适量	-
Primer 正向 (10 μ M)	2 μ L	0.4 μ M
Primer 反向 (10 μ M)	2 μ L	0.4 μ M
2 \times Hieff UNICON [®] HotStart PCR Master Mix (No Dye)	25 μ 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 μ 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 μ 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。