

2×HotStart Fast PCR Master Mix (With Dye) 2×热启动快速 PCR 预混液（含染料）

产品简介

本品含有经过抗体修饰的热稳定 Taq DNA Polymerase，添加强力延伸因子以及优化的缓冲体系，具有超高的扩增效率，十分适用于大肠杆菌、农杆菌、酵母菌等大多数菌落 PCR 扩增。本产品 3 kb 以内基因组等复杂模板扩增的延伸速度可达 1 sec/kb，3-6 kb 片段扩增速度可达 3 sec/kb，6-10 kb 片段扩增速度可达 5 sec/kb，10 kb 以上片段扩增速度可达 10 sec/kb；6 kb 以内质粒等简单模板扩增速度可达 1 sec/kb，可大幅节省 PCR 反应时间。同时，Mix 中含有 dNTPs、Mg²⁺，使用时只需加入引物和模板即可进行扩增。此外，Mix 中含有红色示踪染料，可在反应结束后直接进行电泳，使用方便。体系中加入的保护剂使得本产品经过反复冻融后仍可保持稳定的活性。PCR 产物的 3' 端带 A，可轻松克隆至 T 载体。

产品规格

产品货号	N132001E	N132001S	N132001M	N132001L
产品规格	1 mL	5×1 mL	50×1 mL	100×1 mL

产品储存

-25~-15℃储存，有效期 2 年。

操作注意

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途！

操作说明

1. 推荐 PCR 反应体系

表 1 PCR 反应体系

组分	体积 (μL)	体积 (μL)	终浓度
2×HotStart Fast PCR Master Mix (With Dye)*	25	12.5	1×
模板**	x	x	-
正向引物 F (10 μM) ***	2	1	0.4-0.5 μM
反向引物 R (10 μM) ***	2	1	0.4-0.5 μM
ddH ₂ O	Up to 50	Up to 25	-

【注】：使用前请务必将其彻底混匀。

- 1) *在 1×预混液中含有 2 mM Mg²⁺和 200 μM 的 dNTPs，使用前要充分解冻混匀。
- 2) **大肠杆菌及农杆菌可直接吸取菌液或挑菌上样；酵母菌菌液及菌株建议煮沸 5 min 后放入 -80℃冰箱 3 min，待解冻后上样；注意菌液样本需震荡混匀后再上样，其中菌液推荐上样量为 2-4 μL (0.5-0.8 OD₆₀₀)。

3) ***PCR 反应体系中引物终浓度的范围为 0.2-1 μM ，推荐 0.4 μM 。

不同模板的推荐使用量：

表 2 不同模板的推荐使用量

模板种类	使用量范围 (25 μL 反应体系)
基因组 DNA	10-1,000 ng
质粒或 λ DNA	0.5-50 ng
大肠杆菌菌液	0.5-0.8 OD ₆₀₀

2. PCR 反应程序

表 3 PCR 反应程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	3 min	1
变性	95°C	15 sec	30-35
退火*	60°C	20 sec	
延伸**	72°C	1-10 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

【注】：

- 1) *推荐退火温度：60°C，也可根据自身需要设立温度梯度摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间设置为 20 sec，可以在 10-30 sec 内调节。退火时间过长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。
- 2) **延伸速度：3 kb 以内的基因组、大肠杆菌等复杂模板可设置 1 sec/kb，6 kb 以内复杂模板可设置 3 sec/kb，10 kb 以内大部分复杂模板可设置 5 sec/kb 扩增，10 kb 以上复杂模板片段可设置 10 sec/kb。6 kb 以内的质粒等简单模板可设置 1 sec/kb，6-10 kb 质粒等简单模板可设置 3 sec/kb，10 kb 以上质粒等简单模板可设置 5-10 sec/kb。如需提高产量可适当延长延伸时间，不宜超过 30 sec/kb。