

2×Hieff Canace[®] Gold PCR Master Mix 高保真酶预混液

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|-----------|--------|
| 2×Hieff Canace [®] Gold PCR Master Mix 高保真酶预混液 | 10149ES01 | 100 μL |
| 2×Hieff Canace [®] Gold PCR Master Mix 高保真酶预混液 | 10149ES03 | 1 mL |
| 2×Hieff Canace [®] Gold PCR Master Mix 高保真酶预混液 | 10149ES08 | 5×1 mL |

产品描述

2×Hieff Canace[®] Gold PCR Master Mix 高保真酶预混液是即用型 2×预混合溶液，包含 Hieff Canace[®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase, dNTP 以及优化的缓冲体系。预混液中添加了 Hieff Canace[®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 的热启动因子，极大提高了扩增的检出率和产物的特异性。预混液中添加了延伸因子使得该酶具有长片段扩增能力，扩增目的片段的长度可长达 10 kb，该酶具有 5'→3'DNA 聚合酶活性和 3'→5'核酸外切酶活性，其保真性是 Taq DNA 聚合酶的 52 倍，是普通 Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。扩增速度可达 15 sec/kb。适用于复杂模板的扩增，扩增产物为平末端。

2×Hieff Canace[®] Gold PCR Master Mix 具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，反应体系只需加入引物和模板即可，并可以通过两步法的程序进行扩增，简化了实验步骤，节省了时间。本产品中不含染料，PCR 产物需加入 Loading buffer 后进行电泳。另外，该产品还含有特异保护剂，使得预混液反复冻融后仍可维持稳定活性。

产品应用

基因克隆；复杂 DNA 模板扩增；高通量建库。

运输与保存方法

冰袋运输。-20℃保存。有效期 2 年。

注意事项

- 1) 解冻后 Master Mix 可能出现晶体沉淀，使用前务必涡旋振荡混匀至沉淀消失，不影响试剂性能。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 3) 本产品仅作科研用途！

推荐 PCR 反应体系（冰上配制）

| 组分 | 体积 | 终浓度 |
|-------------------------------------|----------|--------|
| ddH ₂ O | to 50 μL | - |
| DNA 模板 | 适量 | - |
| Primer 正向 (10 μM) | 2.5 μL | 0.5 μM |
| Primer 反向 (10 μM) | 2.5 μL | 0.5 μM |
| 2×Hieff Canace® Gold PCR Master Mix | 25 μL | 1× |

- 【注】:**
- 1) **聚合酶终浓度:** 在 1×预混液含有 1 U/50 μL 的聚合酶。
 - 2) **引物:** PCR 反应体系中引物终浓度的范围为 0.2-1 μM, 推荐 0.5 μM。
 - 3) **Mg²⁺、dNTP 终浓度:** 在 1×预混液含有 1.5 mM Mg²⁺和 200 μM 的 dNTP。
 - 4) **不同模板的推荐使用量 (50 μL 反应体系):**

| 模板种类 | 扩增片段 1 kb-10 kb |
|-----------|------------------------------|
| 基因组 DNA | 50 ng-200 ng |
| 质粒或病毒 DNA | 10 pg-20 ng |
| cDNA | 1-5 μL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10) |

PCR 扩增程序: 有以下三种程序可选择, 优先选择两步法程序。

两步法程序 (优先推荐):

| 循环步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|------|------|-----------|-------|
| 预变性 | 98°C | 3 min | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | 30-35 |
| 延伸 | 68°C | 30 sec/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 5 min | 1 |

三步法程序 (常规程序):

| 循环步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|------|------|-----------|-------|
| 预变性 | 98°C | 3 min | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | 30-35 |
| 退火 | 60°C | 20 sec | |
| 延伸 | 72°C | 30 sec/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 5 min | 1 |

梯度温度退火程序 (难扩增基因推荐程序):

| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|------|---------|-----------|----------------|
| 预变性 | 98°C | 3 min | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | 15, 每个循环降低 1°C |
| 梯度退火 | 70-55°C | 20 sec | |
| 延伸 | 72°C | 30 sec/kb | 20 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | |
| 正常退火 | 55°C | 20 sec | |
| 延伸 | 72°C | 30 sec/kb | 1 |
| 终延伸 | 72°C | 5 min | |

***不同扩增程序下的特点:**

| 程序类型 | 两步法 | 三步法 | 梯度退火 |
|--------|-----|-----|------|
| 速度 | 最快 | 中等 | 慢 |
| 特异性 | 高 | 中等 | 高 |
| PCR 产量 | 中等 | 最高 | 中等 |
| 检出率 | 高 | 中等 | 高 |

- 【注】:**
- 1) **预变性温度和时间:** 推荐温度: 98°C, 时间: 3 min, 高 GC 含量模板 5-10 min。
 - 2) **退火温度和时间:** 推荐温度: 60°C, 也可根据需要, 设立温度梯度去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。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。
 - 3) **延伸温度和时间:** 推荐温度: 72°C。时间: 30 sec/kb, 复杂模板根据实际情况可延长至 60 sec/kb。
 - 4) **扩增产物:** 请将 PCR 扩增产物放置于 -20°C 保存, 防止该酶降解扩增产物。扩增产物为平末端。