

2× Hieff Canace[®] 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 [®] PCR Master Mix 高保真酶预混液	10136ES01	100 μL
	10136ES03	1 mL
	10136ES08	5×1 mL
	10136ES25	25×1 mL

产品描述

2× Hieff Canace[®] PCR Master Mix 是即用型 2× 预混合溶液，包含 Hieff Canace[®] High-Fidelity DNA Polymerase，dNTP 以及优化的缓冲体系。Hieff Canace[®] High-Fidelity DNA Polymerase 是新一代的高保真 DNA 聚合酶，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[®] 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进行扩增，简化了实验操作步骤，减少了人为误差，提高了实验通量和结果的重复性。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。

运输和保存方法

冰袋运输。-20℃ 保存。有效期 2 年。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套。
- 2) 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 [®] 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) **高 GC 模板:** 在体系中加入终浓度为 3%的 DMSO 可能有利于扩增。
 - 5) **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-20 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 扩增程序设置

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	0.5-3 min	1
变性	98°C	10 sec	} 30-35
退火	60°C	20 sec	
延伸	72°C	15-30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

- 【注】:**
- 1) **预变性温度和时间:** 推荐使用 98°C。预变性推荐时间: 质粒 DNA 等简单模板为 30 sec; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 3 min; 高 GC 含量模板为 5-10 min。
 - 2) **退火温度和时间:** 推荐使用 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:** 推荐使用 72°C。延伸时间推荐如下: 质粒 DNA 等简单模板为 15 sec/kb; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 30 sec/kb, 根据实际情况可延长至 40 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, 产物直接用于克隆, 请使用平末端连接载体。

应用实例

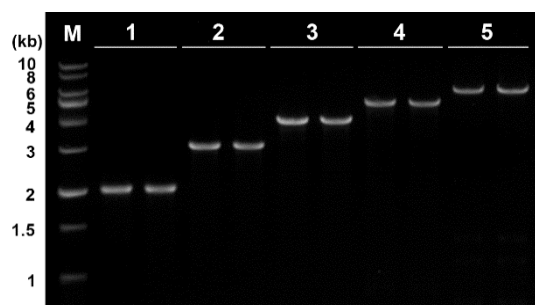


图 1: Hieff Canace[®] 高保真 PCR 预混液扩增 2.1 kb-6 kb 目的片段。所有基因片段均可实现高特异性、高产量扩增。模板: 拟南芥基因组 DNA, 50 ng/50 μL; 退火温度: 60°C; 延伸时间: 30 sec/kb。M: 1 kb ladder; 1: 2.1 kb; 2: 3.1 kb; 3: 4.2 kb; 4: 5 kb; 5: 6 kb。