

1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix (Dye Plus)

产品编号: MA2001 规格: 1.125mL / 5×1.125mL

产品内容

产品组成	MA2001-T	MA2001-1
1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix (Dye Plus)	1.125mL	5×1.125mL
说明书	1份	1份

产品简介

1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix (Dye Plus)采用了新一代Hi-Fidelity DNA Polymerase, 具有高保真性(错配率是普通Taq酶的1/30)及快速扩增(延伸速度为10~15sec/kb)的特点。

本产品是即用型1.1×PCR预混合溶液, 包含Hi-Fidelity DNA Polymerase, dNTP以及优化的缓冲体系, 具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点。进行扩增反应时, 体系中只需加入引物和模板即可, 简化了实验操作步骤, 提高了实验通量和结果的重复性。此外, 本产品含有电泳指示剂, 可在PCR反应完成后直接点样进行电泳。本产品扩增产物为平末端, 可适用于One Step Seamless Cloning Kit (美仑货号: MA2000)。

本产品适用于以试剂盒提取的基因组DNA、cDNA和质粒DNA为模板的PCR反应。

使用说明

(一)反应体系

所有操作请在冰上进行, PCR相关组分解冻后请充分混匀, 用完之后请及时放回-20℃保存。

组分	25μL体系	50μL体系
1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix (Dye Plus) ^a	21~22 μL	43~45 μL
上游引物(10μM)	1 μL	2 μL
下游引物(10μM)	1 μL	2 μL
模板DNA ^b	1~2 μL	1~3 μL

【注意】

a. 本产品为1.1×PCR预混液, 无需额外添加ddH₂O。每次反应中该产品用量至少应占到总反应体积的85%, 50μL反应体系中至少使用43μL PCR Mix, 25μL反应体系中至少使用21μL PCR Mix;

b. 不同模板最佳反应浓度有所不同, 50μL体系推荐模板使用量:

试剂盒提取的基因组DNA: 50~500ng;

质粒、噬菌体DNA: 0.05~1ng;

cDNA: 推荐将反转录产物原液稀释5~10倍后, 取1~2μL作为模板。

(二)反应程序

步骤	温度	时间	循环数(cycles)
预变性 ^a	98℃	2 min	1
变性	98℃	10 sec	30~35'
退火	Tm ^b	10~15 sec ^c	
延伸	72℃ ^d	10~15 sec/kb ^e	
终延伸	72℃	1~5 min	1
/	4℃	Hold	/

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用



【注意】

- 预变性: 扩增较长的片段时, 建议使用95°C预变性5min处理, 防止对DNA造成额外的损伤。
- 退火温度: 参考引物T_m值, 最适退火温度与引物间的平均T_m值相近, 若引物间T_m值偏差较大, 建议退火温度设置为引物中T_m较小值+1~2°C, 最高≤68°C。
- 退火时间: 对于含简并引物、复杂模板的扩增, 建议退火时间延长至30sec。
- 延伸温度: 通常为72°C, 可根据实际需求在68~75°C范围内调整。
- 延伸时间: 复杂模板可以将延伸速度增加至20~30sec/kb; 适当增加延伸时间有利于提高长片段、低浓度、复杂模板的PCR产量, 但总延伸速度不超过30sec/kb。
- 循环数: 一般30~35cycles即可满足大部分扩增需要, 若扩增条带较弱, 可将循环数增加至35~40cycles。注意循环数过多易导致非特异性扩增。

保存条件

-20°C保存, 自生产之日起24个月有效。

注意事项

- 为了提高扩增成功率和产量, 请使用高质量的模板进行扩增, 如试剂盒提取的基因组DNA。请勿使用dUTP或含尿嘧啶的引物与模板。
- 本产品应避免反复冻融, 短期内多次使用可置于2~8°C保存。
- 本产品不可用于细菌16S鉴定。
- 本产品仅适用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题与解答

问题	可能原因	建议
扩增无产物或产物量少	引物特异性差	优化引物设计
	退火温度不合适	设置退火温度梯度, 找到合适的退火温度
	延伸时间不足	适当增加延伸时间至20~30sec/kb
	循环数少	适当增加5~10个循环
	模板降解或模板纯度差	电泳检测模板质量, 使用高纯度模板
	模板浓度低	使用量参照反应体系推荐量调整并适当增加
扩增产品有杂带或弥散条带	引物特异性差	优化引物, 避免非特异性条带以及引物二聚体的扩增
	引物浓度过高	降低引物浓度
	模板过量或纯度差	减少模板量, 使用高质量模板
	退火温度过低	尝试提高退火温度并设置退火温度梯度
	循环数过多	减少循环数至25~30 cycles

S250701

大连美仑生物技术有限公司

官网: <https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱: 0411-62910999 sales@meilunbio.com

本产品仅供科研使用

