



## 2×HiAmp PCR Master Mix (Dye)

Cat. No. CW3339

### 产品简介

本产品是由高效HiAmp DNA Polymerase、Mg<sup>2+</sup>、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂组成的预混体系，浓度为2×。HiAmp DNA Polymerase是由抗体修饰的热启动酶，可进行高特异性的Hot Start PCR。本酶同时具有5'-3'聚合酶活性和3'-5'外切酶活性，保真性约为Taq DNA Polymerase的52倍，扩增长度可达20kb。

此外，本产品使用了高抗逆Buffer，在粗样品的扩增上表现出出色的性能，可实现对普通PCR酶难以扩增的含多种PCR抑制物质的粗样品有效扩增。

本产品中含有电泳指示剂，PCR反应结束后可直接进行琼脂糖凝胶电泳。

**保存条件：** -20℃保存。

### 产品内容

Component	CW3339S 1mL	CW3339M 10mL	CW3339L 50mL
2×HiAmp PCR Master Mix (Dye)	1mL	10×1mL	10×5mL

## 产品特征

### 1. 高抗逆性

对于粗提的动植物组织等的扩增能力非常强，对于血液、微生物等样品，无需抽提核酸，直接添加到反应液中即可获得充分的扩增产物。

### 2. 高扩增能力

对于短片段和经纯化的模板，延伸速度可达10-15sec/kb；对于片段偏长或复杂性高的模板，延伸速度建议使用30sec/kb；同时对微量模板也可有效扩增。

### 3. 高特异性

高效热启动酶大幅度提高扩增特异性。

### 4. 高保真性

本产品保真性约为Taq DNA Polymerase 的52倍。适用于PCR产物在载体上进行克隆后再测序时的实验。

### 5. 高稳定性

将本产品置于37°C进行加速稳定性试验，放置10天，产品性能不受影响。

## 使用说明

### PCR反应液的配制

1. 配制反应液前，请充分混匀各试剂，冻结的试剂请完全解冻后再使用。

组分	25 $\mu$ L反应体系	50 $\mu$ L反应体系	终浓度
2 $\times$ HiAmp PCR MasterMix (Dye)	12.5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	1 $\times$
Forward Primer, 10 $\mu$ M	0.5-1 $\mu$ L	1-2 $\mu$ L	0.2-0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	0.5-1 $\mu$ L	1-2 $\mu$ L	0.2-0.4 $\mu$ M
Template DNA适量	X $\mu$ L	X $\mu$ L	<250ng/25 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	Up to 25 $\mu$ L	Up to 50 $\mu$ L	/

- 所有组分等比例放大或缩小，引物浓度、模板量可根据需求适当调整。
- 所有液体添加以后，请充分混匀，再进行PCR。

## 模板

1. 使用纯化后的模板、cDNA等模板时，添加量请参照下列数据（PCR反应液为25 $\mu$ L）。

模板类型		参考用量	一般情况下模板量
Genomic DNA	真核生物来源DNA	5-250ng	100ng
	原核生物来源DNA	0.1-50ng	10ng
Plasmid DNA		10pg-25ng	1ng
cDNA		< 100ng (RNA相当量)	50ng (RNA相当量)
$\lambda$ DNA		10pg-5ng	1ng

· 扩增体系中混入较多的RNA时，会抑制PCR反应：模板的长度和纯度会对PCR结果产生很大的影响，模板量充足的情况下，建议电泳确认模板质量；以逆转录反应液为模板时，50 $\mu$ L的PCR反应液中加入模板量其RNA量请控制在200ng以下。

· 不可使用含尿嘧啶的模板。

2. 使用粗样品模板时，添加量请参照如下数据（PCR反应液为50 $\mu$ L）。

模板类型	一般情况下模板量	备注
大肠杆菌菌液	加1-5 $\mu$ L	无法获得稳定扩增时，可使用ddH <sub>2</sub> O对菌液进行适当稀释。
大肠杆菌菌落	接种针挑少许	动植物样本经裂解液裂解之后离心取上清作为模板，避免向PCR反应液中加入过多杂质。
酵母	接种针挑少许	
丝状菌	接种针挑少许	
细胞	10 <sup>1</sup> -10 <sup>5</sup>	
血液	1-2 $\mu$ L	
植物叶片	5-10mg	
小鼠尾巴	1-3mm左右	
小鼠脚趾	1-3mm左右	
小鼠耳朵	2-5mm <sup>2</sup> 小块	

## PCR循环条件

1. 配制反应液前，请充分混匀各试剂，冻结的试剂请完全解冻后再使用。

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2min	1
变性 <sup>1)</sup>	95°C	15sec	} 30-35个循环 <sup>4)</sup>
退火 <sup>2)</sup>	根据引物T <sub>m</sub> 定	20sec	
延伸 <sup>3)</sup>	72°C	10-15sec/kb	
终延伸	72°C	5min	1

注意：

- 1) 变性：简单模板的预变性设置为95°C，30sec-1min，对于复杂的模板，预变性时间可延长至3min。
- 2) 退火：退火温度根据引物理论T<sub>m</sub>值进行调整，一般实验中退火温度比引物的T<sub>m</sub>值低3-5°C，如无法得到理想的扩增效率时，应梯度改变退火温度，进行优化；发生非特异性反应时，适当提高退火温度。
- 3) 延伸：扩增不同模板延伸时间设置不同，扩增粗样品时，请按30sec/kb设定；扩增纯化后的DNA、plasmid时，10-15sec/kb可充分扩增。
- 4) 循环数：目的片段的拷贝数较少时，建议把循环数增加到35-45个循环。