

## 2×Hieff® HotStart PCR Genotyping Master Mix (With Dye)

### 产品简介

2×Hieff® HotStart PCR Genotyping Master Mix (With Dye)是即用型的 PCR 预混合溶液，含有 Hieff® HotStart Taq DNA Polymerase，dNTP 以及优化的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行扩增，大大简化了实验的操作步骤，可以高通量操作并提高实验结果的重现性。Hieff® HotStart Taq DNA Polymerase 是经过配体修饰的热稳定 Taq DNA Polymerase，该配体可以随温度变化来调节 DNA 聚合酶活性。在室温下酶活性被完全封闭，经 95°C 加热后活性才被释放。Hieff® HotStart DNA Polymerase 的激活时间只需要 2-3 min，兼容现有的 PCR 程序。本产品防止了在样品准备及反应升温阶段产生非特异扩增，可以有效地进行基因分型实验。

### 产品信息

货号	10108ES03 / 10108ES08 / 10108ES25 / 10108ES50 / 10108ES60
规格	1 mL / 5×1 mL / 25 mL / 50×1 mL / 100×1 mL

### 产品应用

本产品主要应用于小鼠基因型鉴定。

### 质量控制

**核酸外切酶残留检测：**20 μL 本品和 0.6 μg λDNA -HindIII，37°C 下孵育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

**核酸内切酶残留检测：**20 μL 本品和 1 μg λDNA，37°C 温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

**大肠杆菌残留 DNA 检测：**50 μL 体系中，加入 25 μL 本品，以无菌 ddH<sub>2</sub>O 为模板，扩增 E.coil 16s rDNA 基因。30 个循环后扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳，EB 染色，无扩增条带。

### 储存条件

-25~-15°C保存，有效期 2 年。

### 使用说明

#### 1. 推荐 PCR 反应体系

组分	体积 (μL)	终浓度
2×Hieff® HotStart PCR Genotyping Master Mix (With Dye)	25	1×
模板	x	-
正向引物 F (10 μM)	2	0.4 μM
反向引物 R (10 μM)	2	0.4 μM
ddH <sub>2</sub> O	Up to 50	-

表 1 PCR 反应体系

不同模板的推荐使用量：

模板种类	使用量范围 (50 $\mu$ L 反应体系)
基因组 DNA	50-100 ng
质粒 DNA	0.1-20 ng
cDNA	1-5 $\mu$ L (不超过反应体系的 1/10)

表 2 不同模板的推荐使用量

## 2. 反应程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	5 min	1
变性	95°C	30 sec	35
退火*	50-60°C	30 sec	
延伸**	72°C	30 sec/kb	
终延伸	72°C	10 min	1

表 3 PCR 反应程序

\*推荐退火温度和时间：退火温度推荐使用 50-60°C。退火时间推荐设置为 30 sec，可以在 20-30 sec 内调节。可根据需要，设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度和时间。

\*\*延伸温度和时间：温度推荐使用 72°C。时间推荐使用 30-60 sec/kb。

\*\*\*扩增产物：请将 PCR 扩增产物放置于-20°C保存，防止 DNA 发生降解。

## 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操作。
2. 本产品仅作科研用途！