

HS™ Mix

货号: P2081, P2082

产品简介

HS™ Mix 是 2×浓缩的快速高效 PCR 预混合溶液, 含有抗体修饰的热启动型 HS™ Taq DNA 聚合酶、dNTPs、缓冲液等 PCR 扩增必需组分(模板与引物除外)。使用时, 仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR, 大大简化操作过程, 缩短操作时间, 降低污染(加样次数减少)。HS™ Mix 的反应体系经特殊优化, 减少引物二聚体的形成, 显著提高 PCR 扩增的特异性。同时, 由于体系内含有增强剂, 能够显著增强 PCR 扩增的灵敏度。HS™ Taq DNA 聚合酶(高特异性 Taq DNA 聚合酶)是针对普通 Taq DNA 聚合酶灵敏度高, 易产生非特异性条带的情况, 专门研制的高特异性嗜热 DNA 聚合酶产品。本产品的反应缓冲液的离子种类和浓度都经过改良, 使得引物与模板的特异性结合力显著增强, 从而提高引物与模板结合的严谨性, 减少非特异性扩增。实验数据证明 HS™ Taq DNA 聚合酶能显著提高 PCR 扩增的特异性, 降低背景, 又能对长片段有较高的扩增效率。延伸速度为 30s/kb (70~75℃, 简单模板可达 10s/kb)。该酶具有 5'→3'聚合酶活性, 无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA, 可直接用于 TA 克隆。

产品组成

Component	P2081	P2082
2× HS™ Mix	1 ml	1 ml× 5
超纯水	1 ml	1 ml× 5

本产品分含体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品, PCR 扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如无特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	2× HS™ Mix ^[1]	25 μl	1×
2	upstream primer (10 μM) ^[2]	2 μl	0.4 μM
3	downstream primer (10 μM) ^[2]	2 μl	0.4 μM
4	template DNA ^[3]	1-4 μl	<1 μg
5	超纯水 ^[4]	To 50 μl	-
optional	MgCl ₂ (MgSO ₄)/PCR Enhancer ^[5]	Variable	-

[1] 根据实验需要调整 HS™ Mix 用量, 降低终浓度可提高反应特异性, 提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[3] 不同模板最佳用量不同, 部分 DNA 模板建议用量如下表 (50 μl 反应体系)。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1μg-1μg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水 (Cat. #: P9021/P9022/P9023)。

[5] 可单独订购 25mM MgCl₂ (Cat. #: P9031) 和 PCR Enhancer (Cat. #: P9041)。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1
Denaturation	94℃	30 sec	25-35
Annealing	55-68℃ ^[1]	30 sec	
Extension	72℃	Variable ^[2]	1
Final Extension	72℃	5-10 min	

[1] 退火温度应根据 T_m 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 30s/kb 来设最佳（简单模板可达 10s/kb）。

3. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl₂（Cat. #: P9031）等可提高产量。

操作注意事项

1 本产品采用改进的抗体修饰技术，依赖温度激活 DNA 聚合酶，能有效抑制非特异性结合，可在室温下配置反应体系。

2 HS™ DNA 聚合酶具有脱氧核苷酸转移酶活性，因此在 PCR 产物 3'末端通常会加上 1 个多余的脱氧腺嘌呤核苷，可直接用于 TA 克隆。也可以使用 HS™ Mix 进行加 A 反应。

3 碱基错误率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。HS™ Taq DNA 聚合酶的碱基错误率为 1×10^{-5} 。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3 末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65℃之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。