

产品概述

HandyAmp Fast Premix (Dye plus) 是一款经基因工程改造具高成功率的热启动型 DNA 聚合酶产品。该产品具有极高的 DNA 亲和力和持续合成能力, 可以延伸速率为 1~30sec/kb 进行快速扩增 (≤ 2 kb, 1 sec/kb; ≤ 5 kb, 5 sec/kb; ≤ 10 kb, 10 sec/kb)。该产品具备广泛的模板兼容性, 适配于动植物、细菌等基因组 DNA 或粗品模板、高/低 GC 含量靶标。此外, 本产品预先配制 2×Premix 只需加入引物和模板即可进行扩增, 预混电泳指示剂, 产物可直接进行电泳, 方便快捷。

试剂组成

组分	BR1A401-11 200 rxns (50 μ L/rxn)	BR1A401-12 1000 rxns (50 μ L/rxn)	BR1A401-13 2000 rxns (50 μ L/rxn)
2×HandyAmp Fast Premix (Dye plus)*	5 x 1 mL	25 x 1 mL	50 x 1 mL

*本试剂已含有热启动酶、PCR Buffer、dNTPs、MgCl₂、稳定剂、增强剂等成分。

保存条件

-20℃长期保存, 4℃可保存 3 个月。使用前应混匀, 避免反复冻融。

PCR 反应体系配制

试剂	50 μ L 体系	终浓度
2×HandyAmp Fast Premix (Dye plus)	25 μ L	1×
25×Primer Mix ¹	2 μ L	1×
Template ²	--	--
ddH ₂ O	To 50 μ L	--

- 通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2~1 μ M 范围内调整引物浓度。
- 不同种类的模板中含有的靶基因的拷贝数不同, 必要时可进行梯度稀释, 确定最佳的模板添加量, 粗体模板添加量不超过 PCR 反应体积 1/10。

反应条件

PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
热启动	95℃	3~5 min	1
变性	95℃	10~15 s	30~35
退火	55~65℃ ^a	10~30 s	
延伸	68~72℃	X sec ^b	

- 退火温度请根据引物 T_m 值设置。如果需要, 推荐通过建立温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度。此外, 退火温度直接决定扩增特异性, 如发现扩增特异性差, 可适当提高退火温度。
- 可参考 ≤ 2 kb, 1 sec/kb; ≤ 5 kb, 5 sec/kb; ≤ 10 kb, 10 sec/kb, 建议按照最大片段计算延伸速率。

质量控制

- 功能检测: PCR 的敏感性、特异性、可重复性。
- 无外源核酸酶活性, 无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明

- 采用 95℃或 98℃ 3~5 min 热启动。
- 快速 DNA 聚合酶的扩增速率最快可达 1 kb/sec。
- 若需提高 PCR 产物量, 建议适当延长延伸时间。
- 本产品可兼容 ≤ 10 kb 片段的 5 重扩增, 多重扩增延伸时间建议使用 30 sec/kb。
- 体系适应性强, 适用于快速扩增反应。
- 快速 DNA 聚合酶具有 5' -3' 聚合酶, 5' -3' 外切核酸酶活性; 无 3' -5' 外切酶活性, 无校对功能。
- 适用于快速 PCR、基因型鉴定、菌落 PCR 等。
- 制备动植物粗品样本时, 建议尽量剪碎动植物组织, 以便充分裂解出 DNA。
- 当粗样品扩增不好时, 可适当稀释模板再进行扩增。