

1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix(dye-)

Cat# NH0003

产品概述

本产品含 Hi-Fidelity DNA polymerase、dNTPs 和优化的反应缓冲液，浓度为 1.1×，扩增效率强，扩增速度快，具有高保真性、高特异性。DNA 扩增时，只需加入模板、引物，使 Master Mix 溶液的浓度为 1×即可进行反应，扩增产物为平末端。体系中不含电泳指示剂，可在扩增完成后需要加入上样缓冲液，进行电泳检测。

适用于高保真 PCR、基因定点突变、平端克隆、复杂模板、富含 GC/AT 的模板、长片段扩增，保真度为野生型 Taq 酶的 30 倍。不适用于聚丙烯酰胺凝胶电泳。

产品/组分信息

组分编号	组分名称	NH0003-250μL	NH0003-1.25ML	NH0003-5×1.25ML
NH0003	1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix(dye-)	250μL	1.25mL	5×1.25mL

储存方式

-25~-15℃ 保存。

使用说明

注意事项

- 1. 使用时彻底化冻、混匀；
- 2. PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 4℃保存；
- 3. 本产品为 1.1×PCR 预混液，无需额外添加 ddH₂ O。每次反应中该产品用量至少应占到总反应体积的 85%，50μL 体系至少使用 43μL PCR Mix ，25μL 至少使用 21μL PCR Mix。

使用方法

推荐 PCR 反应体系

表 1. 推荐 PCR 体系与条件

组分	25μL 体系	50μL 体系	终浓度
Template DNA	1~2 μL	1~3 μL	Genomic DNA: 10~500 ng Plasmid DNA: 1~30 ng cDNA: 1~2 μL cDNA from RT reaction (50-500 ng RNA for RT reaction)
Forward Primer (10 μM)	1 μL	2 μL	0.4 μM
Reverse Primer (10 μM)	1 μL	2 μL	0.4 μM
1.1×Hi-Fidelity PCR Master Mix	21~22 μL	43-45 μL	

表 2. 建议 PCR 反应程序

Steps	Number of Cycles	Temperature	Time
预变性	1 Cycle	98°C	2 min
变性	30~35 Cycles	98°C	10 sec
退火		Tm	10~15 sec
延伸		72°C	4 kb/min
终延伸	1 Cycle	72°C	5 min
-	-	4°C	Hold

预变性：扩增较长的片段时，建议使用 95°C 5 min 预变性处理防止对 DNA 造成额外的损伤；

退火温度：参考引物 Tm 值，最适退火温度与引物间的平均 Tm 值相近，若引物间 Tm 值偏差较大，建议退火温度设置为引物中 Tm 较小值+1~2；

(值得注意的是，若引物上添加有与模板不匹配的碱基序列，如酶切位点、同源臂等，PCR 程序设置退火温度时，仅需计算与模板特异性匹配的引物序列的 Tm 值。)

退火时间：对于含兼并引物、复杂模板的扩增，建议退火时间延长至 30 s；

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：常规模板推荐设置为 10~15s/kb，复杂模板可以将延伸速度增加至 20~30 s/kb；略微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 30s/kb

循环数：30 个循环可满足大部分扩增需要，循环数过多易导致非特异性扩增，若扩增条带较弱，可将循环数增加至 35~40

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH