

### 【产品概述】

本产品是包含了 HotStart Taq DNA Polymerase、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>和 PCR 缓冲液的 2×预混液。使用时只需加入引物、模板和水即可完成体系配制，可以极大简化操作步骤，提高实验通量和结果重现性。热启动 Taq DNA 聚合酶的使用使得体系配制更加便利，并可以提高扩增成功率或增加检测灵敏度。精心优化的缓冲系统能够确保预混液在多次冻融后仍保持稳定的聚合酶活性。

本产品提供不含染料版本（M3HS02）和含染料版本（M3HS03）。含染料预混液的 PCR 产物可在扩增结束后直接用于电泳分析，简便快捷。

### 【产品特点】

- 操作简单：仅需加入模板、引物和水即可快速完成反应体系配制。
- 特异性强：能有效降低 PCR 的非特异性扩增，提高扩增成功率及检测灵敏度。
- 稳定性佳：多次冻融以及在室温保存一定时间仍能保持稳定的抗体封闭性能及聚合酶活性。

### 【产品组分】

#### 2× HotStart Taq PCR Master Mix

组分	M3HS02-01	M3HS02-02
2× HotStart Taq PCR Master Mix	1 mL	5×1 mL

#### 2× HotStart Taq PCR Master Mix (with Dye)

组分	M3HS03-01	M3HS03-02
2× HotStart Taq PCR Master Mix (with Dye)	1 mL	5×1 mL

### 【储存和运输】

冰上运输，-20℃避光保存，避免反复冻融。产品有效期 12 个月。



## 【实验操作】

1. 建议在 2-8°C 融化 PCR 反应所需的各种溶液并充分混匀。本产品建议分装使用，避免反复冻融。参考下表设置的反应体系：

组分	推荐用量	推荐终浓度
2× HotStart Taq PCR Master Mix	10 μL	1×
Forward Primer (10 μM)	0.2-2 μL	0.1 - 1.0 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.2-2 μL	0.1 - 1.0 μM
Template DNA	Variable	-
ddH <sub>2</sub> O	up to 20 μL	-

2. 参考下表设置的 PCR 扩增程序

步骤	温度	时间	循环数
Pre-denaturation	95°C	3 min*	1
Denaturation	95°C	15 sec	
Annealing	60°C**	15 sec	30-35
Extension	72°C	1 min/kb	
Extension	72°C	5 min	1

\*该预变性条件适合大多数扩增反应。若模板结构复杂，可将预变性时间延长至 5-10 min 以提高预变性效果；

\*\*根据引物 T<sub>m</sub> 值适当调整退火温度。一般设置成低于引物 T<sub>m</sub> 值 3 ~ 5°C 即可；对于复杂模板，可以通过调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

## 【注意事项】

反应液可在室温下配置，请将所有试剂置于冰上。引物设计不佳是 PCR 过程中最常见的问题。请选择适当的引物设计软件进行引物设计，注意引物的 GC 含量、二级结构、二聚体、退火温度、特异性等方面的问题。

1. 引物 3'端最后 8 个碱基应避免出现连续错配；
2. 引物 3'端应避免出现发夹结构；
3. 引物的 GC 含量控制在 40% - 60%之间；
4. 正引物和反向引物的 T<sub>m</sub> 值相差不超过 1°C 为佳，T<sub>m</sub> 值调整至 55 ~ 65°C 为佳；
5. 引物 A、G、C、T 整体分布要尽量均匀，避免使用 GC 或者 AT 含量高的区域；
6. 引物内或者两条引物间避免有 5 个碱基以上的互补序列，3'端避免有 3 个碱基以上的互补序列；
7. 引物设计完毕请使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

2

Hangzhou BioEast Biotech. Co., Ltd.

Room 701, Building 3#, Hexiang Technology Center, Hangzhou Biopharma Town

Tel: 0571-86963020

Web: www.bioeast.com

