

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

产品名称: I-5™ 2X High-Fidelity Master Mix

Cat #: I5HM -100, I5HM -200, I5HM-5000, I5HM-25K, I5HM -OEM

储存条件: -20°C保存

制品说明:

I-5™ 高保真DNA聚合酶是一种具有高精度性、高持续合成能力的酶。它能合成出最精确的DNA拷贝，并且有着极高的合成速率。I-5™特别适用于蛋白表达材料的体外克隆扩增、基于测序的SNP分析以及高度专一性PCR反应。

其特性如下:

I-5™ 2-X High-Fidelity Master Mix的缓冲液体系是基于为I-5™高保真DNA聚合酶发挥最佳效果而设计的。便捷的混合液允许在室温条件下构建反应体系，并且仅需要加入引物和DNA模板。

用途:

- 高度专一性PCR扩增
- 高通量PCR
- 多种克隆技术的应用
- 难以扩增的序列

用法说明:

1. 离心管中加入下列试剂并混匀;

试剂	试剂量(25ul体系)	试剂量(50ul体系)	终浓度
I-5™高保真DNA聚合酶混合液	12.5µl	25µl	1X
10µM 引物A	1µl	2µl	400µM
10µM引物B	1µl	2µl	400µM
模板DNA	X	X	X
ddH ₂ O	加至终体积为 25 µl	加至终体积为 50 µl	

2. 预变性95°C 5分钟; 延伸5-10秒/Kb; 像平常一样进行PCR;

3. 热循环条件:

3步 PCR

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	2min.	
变性	98°C	10sec.	
退火	45°C-68°C	10-15sec.	25-35循环
延伸	72°C	5-10sec./kb	
终延伸	72°C	1-5min.	
	4°C	保存	

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

2步 PCR

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	2min.	
变性	98°C	10-15sec.	25-35循环
退火和延伸	68°C	5-10sec./kb	
终延伸	68°C	1-5min.	
	4°C	保存	

注:

- 1)、推荐加入DNA模板量: 基因组DNA 50-250ng;
质粒DNA 1pg-10ng;
病毒DNA 1pg-10ng;
 - 2)、当引物的Tm值>68°C时, 用2步PCR;
 - 3)、Mg²⁺: 混合液中最终Mg²⁺浓度是2mM;
如有需要以0.5mM的量加入Mg²⁺;
建议Mg²⁺浓度从2mM-4mM;
 - 4)、三步法的退火温度设置: 比引物Tm值高3-4°C。
 - 5)、延伸时间设置: 5-10秒/kb即可。
 - 6)、PCR产物/克隆: PCR产物是平末端;
用该产品进行PCR后推荐使用平末端克隆;
如果要用T/A克隆, PCR产物在加A前应该纯化。
4. 电泳检测: 取2-10ul反应产物与1-2ul 5x orange loading Dye混匀, 然后电泳检测。

该产品仅限于实验科学研究用, 若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途, 本公司概不承担任何责任。