

~ 讓HotStart PCR變的超簡單 ~

撰文：岑祥股份有限公司 費軫尹

Hot Start PCR

利用RT-PCR偵測感興趣的target gene表現是一種普遍且容易的實驗室方法，但是研究者常在實驗結果中發生primer dimer或mis-priming；兩種情況發生的原因主要發生於PCR反應於低溫下非專一性的作用。為了降低這兩種狀況發生率，後人發展出一種改良型PCR --- Hot Start PCR；所有PCR試劑必須要達到特定溫度才能混合，以避免primer和非標的（non-target）序列作用。其作用原理為阻止至少一種PCR重要試劑在PCR反應溫度60~80°C開始前便自行混合，而造成mis-priming或primer dimer。換言之，Hot Start PCR可以促進PCR反應的專一性；因此，Hot Start PCR在近年來廣為實驗室所使用。

目前已有多種Hot Start PCR產品可供研究者選用。例如使用蠟封包(wax bead)，將聚合酶、鎂離子或是其他反應成分如DNA template或緩衝液等包覆於蠟封包中，待高溫溶解蠟膜，這些PCR反應的重要成分便釋出參與作用。或是使用特殊抗體或蛋白質包覆DNA聚合酶或引子，俟高溫蛋白變性後，聚合酶或引子再釋出作用。

但在操作上面，這兩種方法都有其限制性與不便之處。例如特殊設計的聚合酶等產品價格昂貴、而在中途添加礦物油或是蠟封包容易有污染之虞，並不適用於高通量使用；再者，使用礦物油的方式易造成抽取PCR產物不純等問題。看似簡單的PCR真的很難得到完美的結果嗎？MBP為您考慮到

了，並推出簡易又便宜的方式.....

HotStart Storage and Reaction Tube

MBP HotStart Tube結合了超薄管壁和蠟防護的設計，且蠟防護層已預先置於HotStart管中，毋須額外添加。其獨創設計特點為：

- HotStart PCR更簡易迅速完成
- 可事先分裝PCR master mix並儲存，便於日後PCR和定序之用
- 毋須使用礦物油
- 可於同一個管子中完成 RT-PCR



使用方法

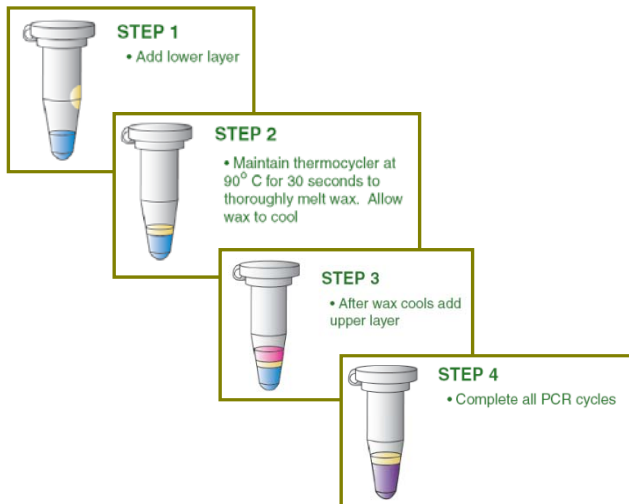
MBP HotStart Tube不僅可用於PCR反應，更可將PCR master mix保存起來，便於下一次使用，且避免手動誤差。

一. PCR反應作用

選擇體積適合的HotStart Tube後，建議先將一些PCR反應試劑添加於HotStart tube管子底層，例如：primers、緩衝液、dNTP、去離子水或是PCR master mix等；接著再加熱90 °C/30秒以溶解管內的蠟防護層約，使蠟防護層封蓋於PCR溶液之上以隔絕稍後加入的上層溶液。

俟HotStart tube冷卻後，添加剩餘的

PCR 反應試劑於上層，例如：DNA template、帶有 $MgCl_2$ 之10x PCR buffer、熱穩定DNA聚合酶或去離子水；接著便可開始PCR加熱程式，進行PCR反應。

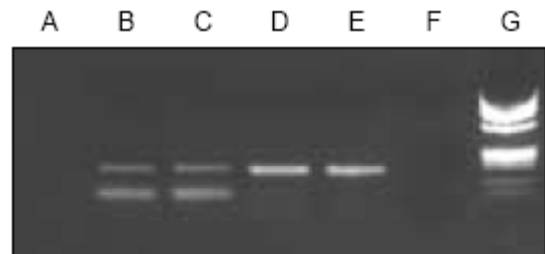


二. PCR試劑儲存

若實驗室經常性進行PCR反應，往往會耗費時間在配製PCR master mix上，因此HotStart Tube可成為一方便儲存master mix之容器。只要選擇適合的HotStart Tube，再事先配製下層master溶液，經90 °C/30秒的加熱過程使蠟防護層溶解，即可將整個HotStart Tube儲存於4 °C 4週；需要進行PCR實驗時直接添加剩餘的PCR反應試劑，即可開始PCR反應。

實例測試

HotStart PCR Tube可有效提高PCR產物、靈敏度、更可有效避免非專一性作用而產生的primer dimer或mis-priming。



Lane A : Negative Control with mineral oil;
Lane B & C: Conventional PCR performed with mineral oil;
Lane D & E: Hot start PCR performed in HotStart tube;
Lane F: Negative control in HotStart Tube;
Lane G: Marker.

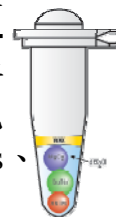
上圖為針對人類D10S173 (155 bp) 設計的引子對，利用傳統PCR和Hot start PCR所做的對照實驗。

詳細產品內容與優惠資訊請參閱
www.thco.com.tw

您還可以這樣做...



除了HotStart PCR tube以外，您還有一個更方便的選擇：**EasyStart PCR Mix-In-A-Tube!** 與HotStart PCR Tube相同設計，同時所有PCR相關試劑皆已添加於含有一層蠟包埋的超薄PCR反應管；包括： dH_2O 、 $dNTPs$ 、10X buffer、 $MgCl_2$ 。



降低污染可能性

超節省時間

MBP
MOLECULAR BIO-PRODUCTS, INC.
The Leader in Innovation for Molecular Biology