

Super HiFi PCR Mix

目录号: KT212

储存条件: -20℃可保存1年

产品内容:

组成	KT212-01 50 μ l \times 40 rxn	KT212-02 50 μ l \times 200 rxn	KT212-11 50 μ l \times 40 rxn	KT212-12 50 μ l \times 200 rxn
2 \times Super HiFi PCR Mix	1 ml	5 \times 1 ml	1 ml	5 \times 1 ml
ddH ₂ O	1 ml	5 ml	1 ml	5 ml
Loading dye in Mix	Yes	Yes	No	No

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057/400-810-6057

TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD.

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介

本产品为Super HiFi DNA Polymerase的预混Mix形式。Super HiFi DNA Polymerase是通过定向分子进化技术开发得到的新型快速高保真DNA聚合酶，对DNA模板具有超强的亲和力，从而使得聚合酶的延伸速度可达15~30 sec/kb、模板延伸能力可达15 kb，并能提高PCR反应的成功率、增加PCR扩增的产物量。此外，Super HiFi DNA Polymerase具有超强的3'~5'外切酶活性（Proofreading活性），保真性约为普通Taq DNA Polymerase的50倍。

本产品为一管式预混Mix形式，内含Super HiFi DNA Polymerase、超纯dNTP、MgCl₂、反应缓冲液等PCR反应所需组分，只需加入模板和引物即可进行PCR扩增反应。除此之外，预混Mix中还整合了PCR反应增强系统，不但提高了预混Mix的稳定性，使得聚合酶对PCR反应抑制剂的耐受能力增强，还提高了Super HiFi DNA Polymerase对高GC含量模板的扩增能力，可扩增GC含量高达75%的模板。

本产品的PCR产物为平末端，可加A处理再与T载体连接或直接使用平末端克隆载体进行基因克隆，如TIANGEN 零背景快速连接试剂盒（目录号：VT205）。

质量控制

经检测无外源核酸酶活性；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

产品特点

- 1. 扩增快速：**延伸速度可达15~30 sec/kb。
- 2. 保真性高：**保真性为普通Taq DNA Polymerase的50倍。
- 3. 延伸力强：**可扩增长至15 kb的DNA片段。
- 4. 灵敏度高：**模板用量可低至10 pg。
- 5. 复杂模板：**可成功扩增GC含量高达75%的DNA模板。
- 6. 操作简便：**预混Mix形式，只需加入模板和引物即可进行PCR反应。

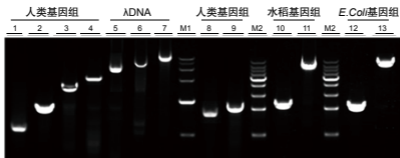
适用范围

用于DNA的高保真快速扩增，如基因表达克隆、基因定点突变、基因组点突变的分析（SNP）等。

扩增模板类型及长片段扩增举例

模板类型	有记录的长片段扩增
人基因组DNA	~8 kb
大鼠基因组DNA	~8 kb
水稻基因组DNA	~8 kb
小麦基因组DNA	~8 kb
玉米基因组DNA	~8 kb
大肠杆菌基因组DNA	~8 kb
cDNA	~6 kb
λ DNA	~15 kb

实验例



1:长度1 kb; 2:长度2 kb; 3:长度4 kb; 4:长度6 kb; 5:长度8 kb; 6:长度10 kb; 7:长度 15kb;
8:长度 1.5kb (GC含量61.5%); 9:长度 1.9 kb (GC含量70.4%); 10:长度2.2 kb; 11:长度8 kb;
12:长度2.1 kb; 13:长度8 kb

操作步骤

一、PCR反应液的配制：

1. 室温融化2× Super HiFi PCR Mix，并按下表配置PCR反应体系。

注：反应体系配制过程应在冰上进行，所有的试剂在使用前均要充分混匀。

组成成分	体 积
DNA Template	**
Primer 1* (10 μM)	1.25 μl
Primer 2* (10 μM)	1.25 μl
2× Super HiFi PCR Mix	25.0 μl
ddH ₂ O	至50 μl

*引物终浓度为0.25 μM时可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时，可增加PCR反应体系中的引物浓度；适当减少PCR反应体系中的引物浓度则可以增加PCR反应特异性。如有必要，可以在0.2~1.0 μM间进行优化选择。

****模板DNA用量请参照如下(50 μ l PCR反应体系):**

模板类型	模板用量范围	推荐模板用量
基因组DNA	1~1000 ng	100~500 ng
质粒DNA	0.01~100 ng	1~10 ng
cDNA	1~200 ng	50~100 ng
λ DNA	0.01~100 ng	1~10 ng

2. 按1中建议模板及引物用量加入模板、引物和 ddH₂O，混匀后上机进行PCR反应。

二、PCR反应条件：

1. 使用2× Super HiFi PCR Mix进行扩增反应时，请先使用三步法。

注：进行三步法扩增时，按延伸速度按照15~30 sec/kb进行设定。对于DNA长度 \geq 6 kb的模板或复杂模板，建议将延伸时间延长至30~60 sec/kb。下述反应程序仅供参考，实际情况下，客户可按照自身情况进行更改和调整。

三步法:

94°C	3 min	
98°C	10 sec	
60°C §	30 sec	} 35 cycles
68°C	15~30 sec/kb	
68°C	5 min	

§退火温度为60°C可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。PCR反应特异性不高时，可以在55~68°C范围内适当增加退火温度；如果引物T_m值小于63°C，可以将退火温度按T_m值进行设定。

2. 当扩增产物出现杂带或弥散时，请尝试两步法或降落PCR（Step down PCR）。

两步法:

94°C	3 min	
98°C	10 sec	
68°C	30 sec/kb	} 35 cycles
68°C	5 min	

3. 结果检测：反应结束后取5 μl反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

常见问题

出现问题	可能原因	解决办法
无扩增产物或扩增产物很少	循环条件不合适	将延伸时间延长为1 min/ kb
		增加2~5个循环
		使用Step down PCR(针对6 kb以上扩增片段效果明显)
	模板过量或纯度不佳	减少cDNA模板用量(以减少对PCR的抑制作用)
引物降解或设计不合理	重新配制或设计引物(适当的增加引物长度可提高引物和模板间的特异性)	
	酶量过少	对50 μ l反应体系, 将酶量从标准的5 U增加到到7.5~10 U
出现杂带或弥散	循环条件不合适	尝试两步法或Step down PCR
		减少2~5个循环
	引物降解或设计不合理	重新配制或设计引物(适当的增加引物长度可提高引物和模板间的特异性)
	模板过量	按照说明书中推荐模板用量添加
酶量过多	对50 μ l反应体系, 将酶量从标准的5 U减少到1.25~2.5 U	