

## 2×HiFi Plus PCR Master Mix with Dye

### 2×HiFi Plus PCR Master Mix 高保真预混液

产品编号	产品名称	规格
BL1422A	2×HiFi Plus PCR Master Mix 高保真预混液	1 mL
BL1422B	2×HiFi Plus PCR Master Mix 高保真预混液	5×1 mL
BL1422C	2×HiFi Plus PCR Master Mix 高保真预混液	10×1 mL

#### 产品简介:

本产品是将 PCR 反应所需的 DNA 聚合酶、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>以及反应缓冲液预先配制成 2 倍浓度的混合物。基于 pfu 基础上优化的超高保真 DNA 聚合酶，具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和 3'→5'的外切酶活性（即校对活性），保真度为野生型 Taq 酶的 80 倍，具有极高的扩增效率，其反应速度视模板复杂程度约为 15-30 s/kb；具有超强的模板适应能力和扩增能力，对于λDNA 模板可以保证 20 kb 的扩增长度，基因组模板可达到 10 kb。优化预混的反应体系内已添加扩增促进因子，无需额外添加 PCR Enhancer，可使高保真酶表现出最优的性能，使用时只需再加入模板和引物并用水补足体系至反应浓度为 1×，即可进行 PCR 反应，大大地简化了操作过程，减少了 PCR 操作过程中的污染。适用于超保真扩增，快速扩增，如基因克隆、高通量测序、定点突变等。

本产品不含染料，在 PCR 反应完成后，需添加上样缓冲液后进行电泳；也可经过纯化处理，以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

#### 产品特点:

- ◇ 操作简便：只需再加入模板和引物；
- ◇ 高保真：保真度为野生型 Taq 酶的 80 倍。
- ◇ 延伸速度快：延伸速度约为 15-30 s/kb，不要超过 1 min/kb。
- ◇ 应用广泛：适用于复杂模板扩增、基因克隆、高通量测序、定点突变等。

#### 使用方法:

1. 将 2×HiFi Plus PCR Master Mix 从-20℃取出后置于冰上解冻，上下颠倒混匀后按下表配制（以 50 μL PCR 反应体系为例）：

组分	50 μL 体系
2 × HiFi PCR Master Mix	25 μL
正向引物（10 μM）	2.5 μL
反向引物（10 μM）	2.5 μL
DNA 模板 <sup>a</sup>	as required
水	补足至 50 μL

\*DNA 模板:

不同模板的推荐使用量（50 μL 反应体系）

模板种类	模板量（≤10 Kb）	模板量（≥10 Kb）
质粒或 λDNA 模板	1 pg-10 ng	100 pg-20 ng
基因组 DNA	20 ng-300 ng	100 ng-500 ng
cDNA	1-5 μL（不超过 PCR 反应总体积的 1/10）	-

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



## 2. PCR 仪程序设置

### (1) 三步法程序（常规程序）：

步骤	温度	时间	循环数
预变性 <sup>a</sup>	98°C	3 min	
变性	98°C	15 s	} 25~35 个 循环
退火 <sup>b</sup>	50°C ~ 72°C	15 s	
延伸 <sup>c</sup>	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5 ~ 10 min	

### (2) 在进行长片段或者一些复杂模板扩增时，如果常规程序不能进行有效扩增，推荐使用以下梯度温度退火程序：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	
变性	98°C	20 s	} 15 个循环，每 个循环降 1°C
梯度退火	70°C ~ 55°C	30 s	
延伸 <sup>c</sup>	72°C	30 s/kb	
变性	98°C	20 s	} 20 个循环
退火	55°C	30 s	
延伸 <sup>c</sup>	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5 ~ 10 min	

**a 预变性：**对于大多数模板，推荐使用的初始预变性温度为 98°C，预变性时间为 3 min。当扩增目的片段≥10 kb 时，可降低预变性温度至 95°C，并延长预变性时间至 5-10 min。

**b 退火：**请根据引物 T<sub>m</sub> 值设置退火温度。如有需要，可设温度梯度去摸索最佳的引物退火温度。退火温度与扩增特异性相关，可通过适当地提高退火温度来提高扩增特异性。退火时间可在 10-30 s 之间进行调节，退火时间过长可能会导致琼脂糖凝胶电泳条带呈弥散状，因此，一般模板按照推荐的 15 s 设置即可，对于一些扩增困难的复杂模板可适当延长退火时间。

**c 延伸：**高保真 DNA 聚合酶扩增时延伸速度约为 15-30 s/kb，不要超过 1 min/kb。应根据扩增产物的长度和模板的复杂性设置相应的延伸时间，复杂性较低时（例如：质粒、λDNA）可用 15 s/kb 的延伸时间；复杂性较高的基因组 DNA 模板，延伸时间则应为 30-60 s/kb；对于有些 cDNA 模板，延伸时间可以增加至 40 s/kb。适当延长延伸时间可以提高产物产量。

3. 结果检测：取 2-5 μL 反应液电泳观察结果。含染料产品可直接上样电泳，无染料产品需添加上样缓冲液后进行电泳。

### 注意事项：

1. 本产品扩增后的 PCR 产物经过纯化后，可直接与平末端载体连接。如果需要与线性 T 载体连接，可进行纯化后，对 PCR 产物的 3'端添加 A 碱基；
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期：

-20°C保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。

