AipMix 2× HiFi FastShort PCR MasterMix(+Dye)

使 用 说 明 书

◆**版本号：231201**

◆**包装量：**

目录编号	包装单位
GP122-01	1mL
GP122-02	5*1mL
GP122-03	25*1mL

◆**产品储存：**冰块运输，-20℃保存，保质期 2 年，室温存放一周，无明显活性改变。

◆**产品介绍：**

本制品包含 HiFi FastShort DNA Polymerase、 dNTPs 和优化的反应缓冲液， 浓度为 2×。使用时只需加入模板、引物，并补足水至 Mix 终浓度为 1×即可。HiFi FastShort DNA Polymerase 来自于基因工程改造的 pfu，大大提高了扩增速度、保真性和产量。HiFi FastShort PCR MasterMix 是非长片段超保真快速扩增的首选产品。

本制品含红色示踪染料，不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳；也可经过纯化处理，以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。PCR 产物为平末端，不需要加 A 头，可直接用爱普科学：Zero Background pTOPO-Blunt Cloning Kit/零背景 pTOPO-Blunt 平末端克隆试剂盒(货号：CV216)和 Zero Background pTOPO-Blunt Simple Cloning Kit/零背景 pTOPO-Blunt Simple 平末端克隆试剂盒(不含多克隆酶切位点 MCS)(货号：CV217)克隆。

◆**染料说明：**本制品含甲酚红，颜色可能在橘黄色和紫红色之间变化。颜色改变不影响产品质量和使用效果。

◆**产品特点：**

1. 快速的扩增效率：延伸速度可以达到2-4kb/min，是*pfu* 的4-8倍。
2. 卓越的扩增产量：一般PCR产物量能比传统*pfu* 的产量高出50%-100%。
3. 优异的保真性能：保真度是*Taq* 的 50多倍以上。一般随机挑一个菌进行测序便是正确无突变菌落。
4. 强大的扩增能力：扩增长度指标和*pfu* 一 致，可以完全替代*pfu* 进行快速高保真扩增，但不建议用于*pfu* 无法扩增的长片段。以复杂基因组DNA为模板适合扩增不超

过3kb左右的产物，以简单基因组、质粒和噬菌体DNA为模板适合扩增不超过6kb左右的产物。

◆**质量验证：**爱普科学生产的每一批 AipMix 2× HiFi FastShort PCR MasterMix 在出货前，都必须通过下面的 2 种大小片段的扩增检测，如下图。

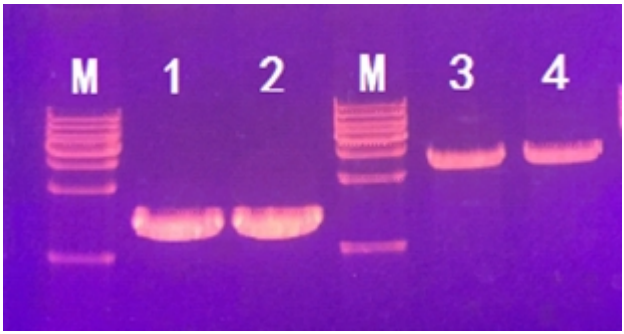

Figure.1. Amplification of DNA fragment from 50 ng genomic DNA in 50μLreaction mixture. Lane M: 1kb ladder; Lane 1-2: Poly(A) Polymerase from E. coli gDNA, 1.4Kb, extension 20 sec/kb; Lane3-4: Hα1AT from Human gDNA, 2.6kb, extension 30 sec/kb.

◆**建议 PCR 体系设置：**

Component	25μLReaction	50μLReaction	Final Concentration
2× HiFi FastShort PCR MasterMix	12.5μL	25μL	1×
Template DNA	as required	as required	-
Forward Primer(10μM)	0.5μL	1μL	0.2μM
Reverse Primer(10μM)	0.5μL	1μL	0.2μM
ddH_2O	up to 25μL	up to 50μL	-

PCR 扩增参考模板使用量(50μL 反应体系)：质粒(0.1-10ng)；细菌基因组(10-100ng)；人类基因组(50-150ng)；cDNA(1-5μLfrom RT reaction)。

◆**建议 PCR 循环条件：**

Step	Temperature	Time	Cycle Number
Initial denaturation	95℃	3 minutes	-
Denaturation	95℃	10 seconds	30 cycles
Annealing	55℃	10-15 seconds	
Extension	72℃	20-30 seconds/kb	
Final Extension	72℃	2-5 minutes	-
-	4-8℃	Hold	-

◆注意事项：

1. AipMix 2× HiFi FastShort PCR MasterMix 扩增速度快，质粒和简单基因组等简单模板可以采用 20 秒/kb；复杂模板如人类基因组可以采用 30-45 秒/kb。
2. 实验过程中对于GC含量很高的模板，预变性和变性温度可以提高到98℃；HiFi FastShort PCR MasterMix耐热性强，98℃对本制剂的活性无改变。
3. 如果扩增模板GC含量高或者模板复杂扩增效果不佳时，可在反应混合物中加入DMSO到终浓度1%-8%，按照1%梯度增加摸索最佳浓度。或者加入甜菜碱至终浓度1.0-1.7 M。并采用降落PCR(Touchdown PCR)。

==========

扫码关注我们