AipMix 2× HiFi FastLong PCR MasterMix(+Dye)

使 用 说 明 书

◆**版本号：231201**

◆**包装量：**

目录编号	包装单位
GP123-01	1mL
GP123-02	5*1mL
GP123-03	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 FastLong 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 FastLong DNA Polymerase 为采用最先进基因工程改造而来的超保真酶添加延伸因子混合研制而成，极大的提高了扩增长度、扩增速度、保真性和产量。HiFi FastLong PCR MasterMix 是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3-4kb/min，是*pfu*的6-8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. 扩增长度能力强：以复杂基因组DNA为模板适合扩增不超过10kb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15kb左右的产物。

◆**质量验证：**爱普科学生产的每一批 AipMix 2× HiFi FastLong 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。

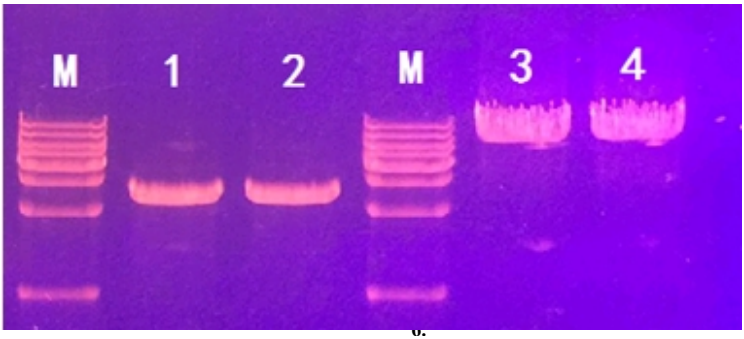

Figure.1. Amplification of DNA fragment from 50 ng human genomic DNA in 50μL reaction mixture. Lane M: 1kb ladder; Lane 1-2: Hα1AT, 2.6kb, extension 25 sec/kb; Lane3-4: ß-globin, 6kb, extension 25 sec/kb.

◆**建议 PCR 体系设置：**

Component	25μL Reaction	50μL Reaction	Final Concentration
2× HiFi FastLong 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(1-5μL from RT reaction)。

◆**建议 PCR 循环条件：**

Step	Temperature	Time	Cycle Number
Initial denaturation	95°C	3 minutes	-
Denaturation	95°C	10 seconds	30 cycles
Annealing	55°C	10-15 seconds	
Extension	72°C	15-25 seconds/kb	
Final Extension	72°C	2-5 minutes	-
-	4-8°C	Hold	-

◆注意事项：

1. AipMix 2× HiFi FastLong PCR MasterMix 扩增速度快，质粒和简单基因组等简单模板可以采用 15-20 秒/kb；复杂模板如人类基因组可以采用 25-30 秒/kb。
2. 如果电泳发现主带上下拖尾模糊现象，或者泳道出现从上样孔拖下来的涂抹带现象，一般提示延伸时间过长，梯度缩短延伸时间(建议 10-15 秒/kb 为梯度减少延伸时间)直到获得满意结果。
3. 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 FastLong PCR MasterMix 耐热性强，98℃对本制剂的活性无改变。
4. 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