

2XRAPA HiFi PCR Mix 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

RAPA HiFi DNA 聚合酶，其来源于高保真 DNA 聚合酶，并加入了增强的延伸结构，使其具有超保真性能（~280 倍 Taq）、长片段扩增能力、高产量。长片段扩增能力，使用该酶可轻松扩增 8kb 的基因组 DNA、20kb 的 λ DNA、8kb 的 cDNA。该酶具有 6kb/min 以上的延伸速度。该 PCR Mix 具有 5' -3' 的聚合酶活性、强 3' -5' 的外切酶活性，产物为平末端。

特点和用途(1) 超保真扩增: ~280 倍 Taq 的保真性能，是载体构建、点突变、NGS 模板扩增、基因合成的最佳用酶。(2) 快速扩增: 具有 6kb/min 的扩增能力。(3) 长片段扩增: 质粒、 λ DNA 等简单模板可以有效扩增>20 kb，基因组可以有效扩增>8 kb，cDNA 可以有效扩增>8kb。

储存: 长期储存置于-20° C 以下，可保存 2 年；短期使用置于 4° C (3 个月) 保存。

使用方法 1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

| | |
|---------------------|------------------|
| 2×RAPA HiFi PCR Mix | 12.5 μ l |
| 上游引物(10 μ M) | 1 μ l |
| 下游引物(10 μ M) | 1 μ l |
| 模板 DNA | 1-250 ng |
| ddH ₂ O | up to 25 μ l |

*模板 DNA 用量参数(25 μ l 反应体系)

| | |
|------------------------------|--|
| 模板 DNA (目的片段 \leq 20kb) | { <ul style="list-style-type: none"> 5-250 ng Genomic DNA 0.1-10 ng Plasmid DNA 1-2 μl cDNA from RT reaction |
| | |
| | |

2. PCR 扩增循环参数

(1) 扩增片段<5kb 时采用如下程序

| 循环数 | 温度 | 时间 |
|-----------------------|----------|---------|
| 1 st Cycle | 95 °C | 1min |
| | 95 °C | 30s |
| 25-35 Cycles | 50~60 °C | 30s |
| | 72 °C | 6kb/min |
| Last Cycle | 72 °C | 2min |

(2) 扩增片段>5kb 时采用如下程序

| 循环数 | 温度 | 时间 |
|-----------------------|----------|-----------|
| 1 st Cycle | 92 °C | 1min |
| | 92 °C | 10s |
| 25-35 Cycles | 50~60 °C | 30s |
| | 72 °C | 2-3kb/min |
| Last Cycle | 72 °C | 2min |

3. 电泳：1% 琼脂糖凝胶电泳，上样 5 μl，电泳结束在紫外灯下检测条带。

4. 注意事项 (1) 当模板 GC 含量>65%时，请添加 5× Q-Solution。(2) 当扩增片段<1kb 时，延伸时间可直接使用 15s，当扩增片段>5kb 时，按照 2-3kb/min 的延伸时间进行设置，能获得更高的产量。(3) 由于不同的 PCR 管其导热性能有所不同，通常 PCR 采用 25 μl 体系可以获得更高的产量。