

2XRAPA HiFi PCR Mix(with dye)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。该制品中已经含有溴酚蓝染料，PCR 扩增完后可直接点样于琼脂糖凝胶，无需再加入 DNA Loading Buffer。

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)	{	5-250 ng Genomic DNA
		0.1-10 ng Plasmid DNA
		1-2 μ l 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	30s
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。