



## 超强高保真 PCR 试剂盒

版本号: V1.0-202206

### 一、产品规格

| 产品组成          | BLGE166-1 |
|---------------|-----------|
| 超强高保真 PCR 试剂盒 | 5mL       |
| 说明书           | 1 份       |

### 二、产品情况

Ultra HiFidelity PCR Kit 是一种新型高保真 PCR 扩增预混液,适用于 PCR 相关的克隆和检测。扩增预混液中的 Ultra HiFi DNA Polymerase 是通过定向分子进化技术开发得到的新型快速高保真 DNA 聚合酶,增强了 DNA 聚合酶对模板的亲合力,使得此酶在扩增速度和延伸能力上得到了提升,增加了 PCR 成功率和产物量。同时,此酶具有优良的 3'-5'外切酶活性(Proofreading 活性),保真性可达市场上主流产品水平,保证了基因和文库扩增过程中的真实性。此外,本产品中的 DNA 聚合酶具有热启动(Hot Start)功能,可有效的控制低温情况下的非特异扩增和酶活损耗,进而保证了 PCR 扩增的特异性和稳定性。

本产品为一管式预混 Mix 形式,内含热启动型的 Ultra HiFi DNA Polymerase、超纯 dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液等 PCR 反应所需组分,只需加入模板和引物即可进行 PCR 扩增反应,操作简便。除此之外,本产品中还整合了 PCR Enhancer 组分,可以提高 Ultra HiFidelity PCR Kit 对 PCR 反应抑制剂的耐受能力和对不同 GC 含量模板的适应能力,因此可以在扩增高级结构复杂的产物和 PCR 抑制剂含量较高的 PCR 体系时添加使用。

### 三、储存运输

-20°C保存,一年有效。

### 四、注意事项

1.为了您的健康安全,请穿戴实验服且佩戴一次性手套进行操作。

### 五、使用方法

① PCR 反应液的配制:

1. 将 2×UltraHiFi Mix (with dye)、引物、模板和 ddH<sub>2</sub>O 于室温条件下(15-25°C)融化,混匀,简短离心后于冰盒上备用。

2. 按照下表体系进行 PCR 反应体系的配制:



| 组分                          | 50μl 反应体系加入量 | 反应浓度    |
|-----------------------------|--------------|---------|
| DNA Template                | Variable **  | -       |
| Primer F* (10 μM)           | 1.25 μL      | 0.25 μM |
| Primer R* (10 μM)           | 1.25 μL      | 0.25 μM |
| 2×UltraHiFi Mix (with dye)  | 25 μL        | 1×      |
| PCR Enhancer*** (if needed) | 10 μL        | 1×      |
| ddH <sub>2</sub> O          | To 50 μL     | -       |

注：配制反应体系时，请全程将反应管置于冰上进行操作。对于多个样品，请计算所需试剂的总体积并在此基础上额外添加 10%，以避免分装过程中枪头挂壁损失而导致试剂体积不足。

\*引物终浓度为 0.25 μM 时可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时，可增加 PCR 反应体系中的引物浓度；适当减少 PCR 反应体系中的引物浓度则可以增加 PCR 反应特异性。如有必要，可以在 0.2-1.0 μM 间进行优化选择。

\*\*模板 DNA 用量请参照如下（50 μl PCR 反应体系）：

| 模板类型    | 模板用量范围      | 推荐模板用量     |
|---------|-------------|------------|
| 基因组 DNA | 1-1000 ng   | 100-500 ng |
| 质粒 DNA  | 0.01-100 ng | 1-10 ng    |
| cDNA    | 1-200 ng    | 50-100 ng  |
| λDNA    | 0.01-100 ng | 1-10 ng    |

\*\*\* PCR Enhancer 可以提高 Ultra HiFidelity PCR Kit 对 PCR 反应抑制剂的耐受能力和对不同 GC 含量模板的适应能力。针对于复杂高级结构模板、高 GC 模板和抑制剂含量较高的模板进行 PCR 扩增，当扩增效果不佳时，可在 PCR 体系中添加 PCR Enhancer。

3. 按步骤 2 中建议模板及引物用量加入模板、引物和 ddH<sub>2</sub>O，混匀后上机进行 PCR 反应。

② PCR 反应条件：

1. 使用 2×UltraHiFi Mix (with dye) 进行扩增反应时，请先使用三步法。

注：进行三步法扩增时，按延伸速度按照 10-15 sec/kb 进行设定；对于 DNA 长度≥10 kb 的模板或复杂模板，可将延伸时间延长至 30 sec/kb。下述反应程序仅供参考，实际情况下，客户可按照自身情况进行更改和调整。

三步法反应程序参考如下：

| 步骤 | 温度   | 时间          | 循环数 |
|----|------|-------------|-----|
| 1  | 94°C | 2min        | 1   |
| 2  | 98°C | 10sec       | 35  |
| 3  | 60°C | 30sec       |     |
| 4  | 68°C | 10-15sec/kb |     |
| 5  | 68°C | 5min        | 1   |



|   |     |      |   |
|---|-----|------|---|
| 6 | 4°C | Hold | 1 |
|---|-----|------|---|

\*退火温度为 60°C 可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。PCR 反应特异性不高时，可以在 55-68°C 范围内适当增加退火温度；如果引物 T<sub>m</sub> 值小于 63°C，可以将退火温度按 T<sub>m</sub> 值进行设定。

2. 当扩增产物出现杂带或弥散时，请尝试两步法或降落 PCR（Step down PCR）。

两步法反应程序参考如下：

| 步骤 | 温度   | 时间          | 循环数 |
|----|------|-------------|-----|
| 1  | 94°C | 2min        | 1   |
| 2  | 98°C | 10sec       | 35  |
| 3  | 68°C | 10-15sec/kb |     |
| 4  | 68°C | 5min        | 1   |
| 5  | 4°C  | Hold        | 1   |

3. 结果检测：反应结束后取 5 μl 反应产物，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

注：2×UltraHiFi Mix (with dye) 中已添加电泳指示剂，无需额外添加 Loading Buffer。

③ 扩增模板类型及长片段扩增举例：

有记录的样品适用范围和扩增长度如下表所示：

| 模板类型        | 有记录的长片段扩增 |
|-------------|-----------|
| 人基因组 DNA    | -8kb      |
| 大鼠基因组 DNA   | -8kb      |
| 大肠杆菌基因组 DNA | -8kb      |
| 玉米基因组 DNA   | -8kb      |
| 麦基因组 DNA    | -8kb      |
| 水稻基因组 DNA   | -8kb      |
| λDNA        | -15kb     |
| cDNA        | -6kb      |

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断！