

2×HiPerFi Flash Master Mix PCR605



产品概述

Product Overview

2×HiPerFi Flash Master Mix 使用改造后的 HiPerFi DNA Polymerase，在保持高保真性（保真度为普通 Taq 酶的 240 倍）的同时，具备快速扩增能力（延伸速度达 5 sec/kb）。通过引入热启动技术并添加特定因子，该产品的扩增特异性、成功率及产量均显著提高。

本产品包含改造后的 HiPerFi DNA Polymerase、dNTP 及优化的缓冲体系，支持在通用退火温度下同时扩增不同 T_m 值的引物。使用时只需加入引物和模板即可进行扩增，减少移液操作，提高检测通量与结果稳定性。产品中含有蓝色电泳指示剂，PCR 反应结束后可直接点样进行电泳。扩增产物为平末端，可直接用于无缝克隆等后续应用。

产品组成

Product Composition

组 分	PCR605A 40 rxns/50 μ L	PCR605B 600 rxns/50 μ L
2×HiPerFi Flash Master Mix	1 mL	15×1 mL

注意事项

Precautions

1. 为保证扩增效果请使用高质量模板；
2. 无法读取引物和模板链中的 dUTP 衍生物或 dITP；
3. 所有操作请在冰上进行，各组分解冻后请充分混匀，用完之后请及时放回-20℃保存；
4. 为了防止 HiPerFi DNA Polymerase 的校对活性降解引物，请将聚合酶 Mix 最后加入反应体系中；
5. HiPerFi DNA Polymerase 具有较强的校对活性。若扩增产物需要进行 TA 克隆，加 A 之前必须进行 DNA 纯化。

操作流程

Operation Process

◆ 制备 PCR 预混液

组 分	最终浓度	50 μ L 体系
2× HiPerFi Flash Master Mix	1×	25 μ L
10 μ M Forward primer	0.5 μ M ^{*1}	2 μ L
10 μ M Reverse primer	0.5 μ M ^{*1}	2 μ L
Template DNA	根据不同模板选择反应浓度 ^{*2}	X μ L
DNase Free H ₂ O	—	to 50 μ L

*1 目的片段 > 5 kb, 可将引物终浓度降低至 0.2 μM ;

*2 不同模板 50 μL 体系推荐模板用量参照下表:

50 μL 体系部分模板推荐使用量:	
动植物基因组DNA	100 - 1000 ng
细菌基因组DNA	10 - 100 ng
cDNA	1 - 3 μL
质粒DNA/ λ DNA	0.5 - 10 ng

◆ 反应程序

循环步骤	温 度	时 间	循环数
预变性	98°C	30 sec	1
变性	98°C	10 sec	} 25 - 35
退火 ^{*1}	60°C	10 sec	
延伸	72°C	5 - 15 sec/kb ^{*2}	
最终延伸	72°C	5 min	1
保温	4°C	-	-

*1 a: 当上下游引物 T_m 值都>50°C, 退火温度建议使用60°C; b: 当上下游引物 T_m 值有一条或均值 \leq 50°C, 退火温度推荐使用50°C;
c: 也可根据引物 T_m 值设定退火温度。

*2: 扩增时间设置可参考下表:

产物长度	推荐延伸时间
< 5 kb	5 sec/kb
> 5 kb	15 sec/kb

保存条件

Storage Conditions

-20°C保存, 干冰/-20°C运输。保质期限: 24个月。