

2×Fast HIFI MasterMix (Dye)

使用说明书

【目录号】

HRK-GC2020-1 HRK-GC2020-5

HRK-GC2120-1 HRK-GC2120-5

【组分说明】

试剂成分	体积 (ml)	
2×Fast HIFI MasterMix	1ml	5ml
2×Fast HIFI MasterMix Dye	1ml	5ml

【产品简介】

本品是由 Fast HIFI DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs 以及 PCR 稳定剂和增强剂组成的预混体系，浓度为 2×。Fast HIFI DNA Polymerase 扩增效率更高，保真性为普通 taq 的 50 倍以上，是 Pyrococcus furiosus DNA 聚合酶的 6 倍以上，并且具有更快扩增速度。独创的 Master Mix 配方使整个反应体系非常稳定，超过 98% 的 PCR 扩增能一次成功，同时复杂模板也能得到有效扩增，并可最大限度地减少人为误差和污染。本产品已加入染料（蓝色），反应结束后可加入荧光染料直接进行电泳检测。Fast HIFI DNA Polymerase 具有 5' -3' 持续合成活性和 3' -5' 核酸外切酶活性，其扩增产物为平末端。

【产品特点】

- 难以想象的延伸速度 (10 s/kb) ；
- 超高的耐热性能（98℃ 热处理 1 h 无明显活性变化）；
- 极强的扩增能力；
- 保真性为普通 taq 的 50 倍以上，是 Pyrococcus furiosus DNA 聚合酶的 6 倍以上；

【储存条件及有效期】

- 存储温度：-20℃ ± 5℃
- 在正确储存条件下，试剂盒有效期为 12 个月。

【使用方法】

1、PCR 反应体系：

试剂名称	25μl 体系	50μl 体系	终浓度
2×Fast HIFI MasterMix (Dye)	12.5 μl	25 μl	1X
10 μM Primer F	1 μl	2 μl	0.4 μM
10 μM Primer R	1 μl	2 μl	0.4 μM
Template DNA	X μl	X μl	-
ddH ₂ O	Up to 25ul	Up to 50ul	-

a: 引物的终浓度范围是 0.2~0.8 μM。推荐 0.4 μM，过少的引物会导致扩增失败或产量极低，过量的引物可能会增加错配的可能性，导致非特异性扩增。

b: 对于质粒或噬菌体 DNA，推荐量为 0.05~1 ng；

对于基因组，推荐量为 50~200 ng；

对于菌落 PCR，用 10 μl 枪头挑取单菌落后，把带有菌落的枪头放入提前加过 30 μl 的无菌水，摇晃 10 s 后 25~37℃ 放置 10 分钟后取 1~3 μl 作模板；

对于菌液 PCR，推荐 0.05~0.5 μl 作为模板。

过量的模板容易导致非特异性扩增，过少的模板容易导致 PCR 扩增效率低。

c: 勿使用含尿嘧啶的引物或模板。

2、PCR 循环参数：

(1) 常规循环

温度	时间	循环
98℃	2 min	1
98℃	10 s	30 ~35
Tm±5℃	10~30 s	
72℃	10 s/kb	
72℃	1 min	1
4℃	Hold	1

(2) Touch Down PCR 反应（以人基因组为模版）

温度	时间	循环
98℃	2 min	1
98℃	10 s	10
65℃	30 s	
72℃	10 s/kb	
98℃	10 s	25
55℃	30 s	
72℃	10 s/kb	
72℃	1 min	1
4℃	Hold	

具体 PCR 程序，请根据实际应用进行调整。

a: 扩增 > 5 kb 的产物时，建议使用 98℃ 5 min 预变性处理防止对 DNA 造成额外的损伤。

b: 退火温度：一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5℃，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。

c: 退火时间：对于含兼并引物、复杂模板的扩增，建议退火时间延长至 30 s。

d: 延伸时间：推荐的延伸速度：10s/kb；质粒等简单模板：10 s/kb；常规基因组模板：10 s/kb；复杂模板、脏模板：15~25 s/kb；略微增加延伸时间（10~15 s/kb）有利于提高低浓度、复杂模板 PCR 的产量，但总延伸时间不超过 30 s/kb。