



## 2×HotStart HiFi PCR Master Mix with Dye

货号: D019-1, D019-2

### 产品信息

Cat. No.	Unit Size	Storage
D019-1	5×1 ml	-20°C Avoid freeze/thaw cycle
D019-2	10×1 ml	

### 产品介绍

**2×HotStart HiFi PCR Master Mix with Dye** 是由高保真的 HiFi DNA Polymerase、Buffer、Mg2+、dNTPs 红色电泳指示剂等组成的预混体系，浓度为 2×。本品含有特殊的稳定剂和增强剂，保证试剂的稳定性同时优化扩增反应。预配好的 PCR 混合液使操作更加简单快捷，可最大限度地减少人为误差和污染。本品含有红色电泳指示剂，PCR 结束后可以直接进行电泳检测，无需再加 loading buffer，省时省力。

**2×HotStart HiFi PCR Master Mix with Dye** 是一种兼具扩增效率和保真性的高保真 DNA 聚合酶，具有 5'-3'DNA 聚合酶活性和 3'-5'外切核酸酶活性，其性能优良、稳定可靠。HiFi DNA Polymerase 的延伸速率为 15-30 s/kb，保真度是 Taq 酶的 50 倍，克服了普通 Pfu 酶扩增效率低、扩增速度慢的缺陷，缩短了反应时间。可用于各种长度范围的（可长至>10 kb）的 DNA 片段的扩增。使用本产品扩增得到的 PCR 产物的 3'端不带“A”，产物为平末端。本产品对 PCR 模板的适应性广，抗抑制能力强，可用于 FFPE、唾液、粪便、尿液或血液等各类样本提取的 DNA 或 cfDNA 模板的扩增。

### 产品特点

快速、保真、稳定。

### 保存条件:

-20°C保存，至少一年有效。如需短期内频繁使用，请存放于 2-8°C，避免反复冻融。

### 注意事项:

1. 请使用高质量的模板。请勿使用 dUTP 和带有尿嘧啶的引物和模板。
2. HiFi DNA Polymerase 具有很强的校对活性。如扩增产物进行 TA 克隆，加 A 之前必须进行 DNA 纯化。
3. 新融化后，或 2-8°C存放 1 天以上的本品，使用前务必上下颠倒轻轻混匀，然后短暂离心后使用。
4. 避免频繁多次反复冻融，反复冻融可能使产品性能下降。
5. 配制 PCR 反应体系时，请使用高质量的枪头和离心管，防止污染。

## 实验操作程序

使用前务必保证本产品完全融化，并上下颠倒轻轻混匀，否则可能由于试剂不均一从而影响实验效果。

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

### 1. 按下列组分配制 PCR 反应液：

试剂	50 $\mu$ l 体系（推荐）	终浓度
2×HotStart HiFi PCR Master Mix	25 $\mu$ l	1×
PCR Forward Primer（10 $\mu$ M）	1 $\mu$ l	200 nM
PCR Reverse Primer（10 $\mu$ M）	1 $\mu$ l	200 nM
DNA template	可变	as required*
ddH <sub>2</sub> O	补水至 50 $\mu$ l	

**Note:** 50  $\mu$ l 反应体系的DNA模板用量建议如下：人基因组DNA: 5ng - 200 ng; 大肠杆菌基因组DNA: 100 pg - 100 ng;  $\lambda$ DNA: 10 pg - 10 ng; 质粒或病毒DNA: 10 pg - 10 ng.

### 2. PCR 反应条件设置：

Steps	Temperature	Duration	Cycle
Initial Denaturation	95°C	30 sec	1
Denaturation	95°C	10 sec	25-35
Annealing*	56-64°C	10 sec	
Extension	72°C	15-20 sec/kb	
Final Extension	72°C	15-20 sec/kb	1
Holding	4°C	-	1

## 应用案例

【以  $\lambda$  DNA为模板扩增3, 8, 15, 20 kb的DNA片段】

