

2×K3 FastHiFi PCR MasterMix

目录号 PR152

使用说明书

网站: www.codonx.com
咨询电话: 010-56315162
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/储存条件
- 2/产品内容
- 3/制品说明
- 4/产品特点
- 5/建议 PCR 体系设置
- 6/建议 PCR 循环条件
- 7/注意事项

1/保存条件:

-20 °C 保存 2 年。短时间 (1 个月内) 使用可以置 4 °C

2/产品内容:

组成 \ 编号	PR152-01	PR152-02
2×K3 FastHiFi PCR MasterMix	1ml	5ml

3/制品说明:

本产品包含 K3 FastHiFi DNA Polymerase、dNTPs 和优化的反应缓冲液, 浓度为 2×。使用时只需加入模板、引物, 并补足水至 Mix 终浓度为 1×即可。K3 来自于基因工程改造的 pfu, 大大提高了扩增速度、保真性和产量。K3 Mix 是非长片段超保真快速扩增的首选产品。本产品含红色示踪染料, 不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳; 也可经过纯化处理, 以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。PCR 产物为平末端, 不需要加 A 头。

4/产品特点:

1. 扩增速度快: 延伸速度可以达到 2-4kb/min, 是 pfu 的 6-8 倍。
2. 扩增产量高: 一般 PCR 产物量比传统 pfu 产量高 50%-100%。
3. 优异保真性: 保真度是 taq 的 54 倍以上。一般随机挑一个菌测序便是正确无突变菌落。
4. 扩增长度指标和 pfu 一致, 可以完全替代 pfu 进行快速高保真扩增, 但不建议用于 pfu 无法扩增的长片段。

以复杂基因组 DNA 为模板适合扩增不超过 3kb 左右的产物, 以简单基因组、质粒和噬菌体 DNA 为模板适合扩增不超过 6kb 左右的产物。

5/建议 PCR 体系设置:

Component	25 μ l Reaction	50 μ l Reaction	Final Concentration
2 \times K3 PCR MasterMix	12.5 μ l	25 μ l	1 \times
Forward Primer(10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	0.2 μ M
Reverse Primer(10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	0.2 μ M
Template DNA	as required	as required	
ddH ₂ O	up to 25 μ l	up to 50 μ l	

参考模板用量 (50 μ l 反应体系) :

质粒: 0.1-10ng; 细菌基因组: 10-100ng; 人类基因组: 50-150ng; cDNA:
1-5 μ l from RT reaction.

6/建议 PCR 循环条件:

Step	Temperature	Time	Cycle Number
Initial denaturation	95 $^{\circ}$ C	3 minutes	
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	10 seconds	30 cycles
Annealing	55 $^{\circ}$ C	10-15 seconds	
Extension	72 $^{\circ}$ C	15-20 seconds / kb	
Final Extension	72 $^{\circ}$ C	2-5 minutes	
	4-8 $^{\circ}$ C	Hold	

7/注意事项:

1. K3 扩增速度快, 质粒和简单基因组等简单模板可以采用 15-20 秒/kb; 复杂模板如人类基因组可以采用 30-45 秒/kb。
2. 对于 GC 含量很高的模板, 预变性和变性温度可以提高到 98 $^{\circ}$ C。K3 耐热性强, 98 $^{\circ}$ C 对 K3 的活性改变。
3. 如果扩增模板 GC 含量高或者模板复杂扩增效果不佳时, 可在反应混合物中加入 DMSO 到终浓度 1%-8%, 按照 1%梯度增加摸索最佳浓度。或者加入甜菜碱至终浓度 1.0-1.7 M。并采用降落 PCR (Touchdown PCR)。

每一批 2 ×K6 PCR Mix 出货前必须通过下面的 2 种大小片段的扩增检测

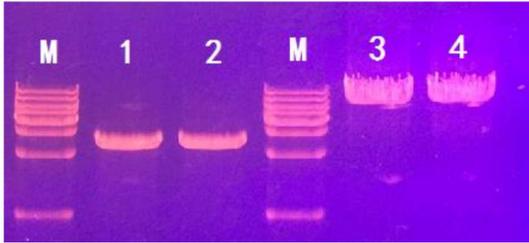


Figure.1. Amplification of DNA fragment from 50 ng human genomic DNA in 50 μ l reaction mixture. Lane M: 1kb ladder; Lane 1-2: H α 1AT, 2.6Kb, extension 20 sec/kb; Lane3-4: β -globin, 6kb, extension 20 sec/kb.