

产品说明书

产品名称: XK 2× Phusion Hi-Fi PCR Master Mix

产品货号: XKL0204

产品组分

组分	规格
XK 2× Phusion Hi-Fi Mix	5×1.0 mL

储存条件

长期保存, 请置于-20°C, 有效期 24 个月。

产品简介

本产品包括通过基因改造技术实现快速扩增和超高保真的 DNA 聚合酶, 延伸速度可达 4 kb/min。同时含有 dNTPs、Mg²⁺、优化的反应缓冲液、PCR 反应的稳定剂等, 浓度为 2×。由于使用的超高保真 DNA 聚合酶具有极强的 3' → 5' 外切酶活性, 与普通高保真酶相比, 保真性更高, 是普通 Taq DNA Polymerase 的 128 倍。DNA 扩增时, 只需加入模板、引物和水, 使 XK 2× Phusion Hi-Fi Mix 溶液的浓度为 1× 即可进行反应。扩增产物为平端, 可直接用于无缝克隆实验。同时, 反应产物可直接上样, 通过琼脂糖凝胶电泳检测。本产品包含红色电泳指示剂, 指示带在 1% 琼脂糖凝胶中的迁移速率与 1.5 kb 双链线性 DNA 相当。

产品特点

- ◇ 减少 PCR 操作时间
- ◇ 避免因多步操作带来的污染
- ◇ 优化的缓冲液, 可用于低丰度模板、复杂模板或富含 GC/AT 模板的扩增
- ◇ 基因组 DNA 片段的扩增 (≤15 kb)
- ◇ Plasmid DNA 片段的扩增 (≤15 kb)
- ◇ 热启动, 高特异性

适用范围

1. 超高保真 PCR 快速扩增, 平端克隆, 无缝克隆实验, 基因定点突变。
2. 低丰度模板、复杂模板或富含 GC/AT 模板的扩增。
3. 长片段扩增。

配制体系

组分	50 μL 体系	终浓度
XK 2× Phusion Hi-Fi Mix*	25 μL	1×
10 μM 上游引物	1 μL	0.2 μM
10 μM 下游引物	1 μL	0.2 μM
模版 DNA**	见下表	
ddH ₂ O	Up to 50 μL	



*. 使用时彻底融化、混匀。

**. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50 μ L 体系推荐的模板用量：

模板种类	模板起始量
基因组 DNA	10 ng - 400 ng
质粒 DNA	10 pg - 5 ng
病毒 DNA	10 pg - 10 ng
cDNA	1 - 5 μ L

推荐程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	30sec.	1
变性	98°C	10 sec.	25-35
退火	55~65°C*	30 sec.	
延伸	72°C	15~30 sec./1kb	
终延伸	72°C	5 min.	1
保存	4°C	∞	

*. 推荐使用退火温度 60°C。

常见问题与解决办法

Q1: 扩增无产物或产物量少？

A1:

- 1) 模板降解或模板纯度差。电泳检测模板质量，使用高质量模板；
- 2) 模板浓度过低。适当增加模板用量；
- 3) 引物不合适。优化引物设计；
- 4) 退火温度不合适。设置退火温度梯度，摸索合适的退火温度；
- 5) 循环数过少。适当增加 5~10 个循环；
- 6) 延伸时间不足。在粗提物做模板或者模板具有复杂序列的情况下，把延伸速度改成 30-60 sec./kb。

Q2: 扩增出现非特异条带或弥散带？

A2:

- 1) 引物特异性差。优化引物，避免非特异性条带以及引物二聚体的扩增；
- 2) 引物浓度过高。降低引物浓度；
- 3) 模板过量或纯度差。减少模板量，使用高质量模板；
- 4) 退火温度过低。适当提高退火温度或使用 Touchdown PCR 程序；
- 5) 循环数过多。减少循环数至 25~30 cycles。

