

产品说明书

产品名称: **XK 2× Hi-Fi Plus Hot Start Super Mix**

产品货号: **XKL0205**

产品组分

组分	规格
XK 2× Hi-Fi Plus Hot Start Super 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, 延伸速度最快可达 1 sec./ kb。本品含有 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 160 倍以上。使用时只需加入模板、引物和水, 使 XK 2× Hi-Fi Plus Hot Start Super 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。本产品含有红色电泳指示剂, 可在 PCR 反应完成后直接点样进行电泳, 红色指示剂在 1% 琼脂糖凝胶中的迁移速率与 1.5kb 双链线性 DNA 相当。

产品特点

- ◇ 减少 PCR 操作时间
- ◇ 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
- ◇ cDNA 片段扩增 (≥15 kb)
- ◇ 基因组 DNA 片段的扩增 (≥20 kb)
- ◇ Plasmid DNA 片段的扩增 (≥20 kb)
- ◇ 热启动, 高特异性、高灵敏度和得率

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× Hi-Fi Plus Hot Start Super Mix*	25 μL	1×
10 μM 上游引物	1.5 μL	0.3 μM
10 μM 下游引物	1.5 μL	0.3 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 ^a	55~65°C	30 sec.	
延伸 ^b	68°C	15 sec./ kb	
终延伸	68°C	5 min.	1
保存	4°C	∞	

- a. 推荐使用退火温度 60°C。
 b. 延伸时间请参照以下条件进行设定：

目的片段长度	建议延伸时间
≤ 2 kb	1-5 sec./ kb
≤ 6 kb	10-15 sec./ kb
>6 kb	15-20 sec./ kb

如无 PCR 扩增产物或需提高扩增产物量，请适当延长延伸时间。

常见问题与解决办法

Q1: 扩增无产物或产物量少？

A1:

- 1) 重复实验避免加样错误；
- 2) 使用高纯度模版并适当增加模版量；
- 3) 优化引物设计；
- 4) 设置退火温度梯度，摸索合适的退火温度；
- 5) 增加循环数至 35-40 个循环；
- 6) 适当增加延伸时间。

Q2: 扩增出现非特异条带或弥散带？

A2:

- 1) 设置退火温度梯度,优化合适的退火温度
- 2) 降低引物浓度至终浓度为 0.2 μ M
- 3) 优化引物设计
- 4) 适当减少延伸时间
- 5) 减少扩增循环数至 25-30 个循环
- 6) 用高纯度模板并适当减少模板用量

