

## 2×AccuProof<sup>®</sup> Plus HiFi HotStart SuperMix

货号：A204

保存：-20℃保存两年

| 货号      | 规格     |
|---------|--------|
| A204-01 | 1 ml   |
| A204-02 | 5×1 ml |

### 【产品概述】

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，具有高效持续合成能力，并对PCR抑制剂具有较强耐受性，在1-15 sec/kb的延伸速度下可实现超高的扩增效率和特异性，同时大幅度节省PCR反应时间。此外，超高保真DNA聚合酶结合高封闭率的抗体，可在PCR变性步骤之前抑制酶活性，防止非特异性扩增和引物降解，提高反应灵敏度和得率。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，为分子克隆、高通量测序和定点突变等需要高度扩增精确性的PCR实验提供了高效和便捷的解决方案。本产品含有dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、优化的反应缓冲液、强效PCR增强剂、PCR反应的稳定剂等，浓度为2×，使用时只需加入模板、引物和水，使SuperMix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。

- 大幅度节省PCR反应时间
- 优化的缓冲液和PCR增强剂，可稳健地扩增低丰度模板、复杂模板或富含GC/AT模板
- cDNA片段的扩增 (≥ 15 kb)
- Plasmid DNA片段的扩增 (≥ 20 kb)
- 基因组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】

- 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
- 低丰度模板、复杂模板或富含GC/AT模板的扩增
- 高通量测序文库构建
- 长片段扩增

## 【产品组成】

| Component                               | A204-01 | A204-02  |
|-----------------------------------------|---------|----------|
| 2×AccuProof Plus HiFi HotStart SuperMix | 1 ml    | 5×1 ml   |
| 6× DNA Loading Buffer                   | 1 ml    | 2×1.5 ml |

## 【推荐常规PCR体系（以50 μl反应体系为例）】

| Component                                            | Volume   | Final Concentration |
|------------------------------------------------------|----------|---------------------|
| 2×AccuProof Plus HiFi HotStart SuperMix <sup>a</sup> | 25 μl    | 1×                  |
| 10 μM Forward Primer                                 | 1.5 μl   | 0.3 μM              |
| 10 μM Reverse Primer                                 | 1.5 μl   | 0.3 μM              |
| PCR-grade Water                                      | Variable | -                   |
| Template <sup>b</sup>                                | Variable | As Required         |
| Total Volume                                         | 50 μl    | -                   |

a. 使用时彻底融化、混匀。

b. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 μl体系推荐的模板用量：

| 模板种类     | 模板起始量                      |
|----------|----------------------------|
| 基因组 DNA  | 10 - 400 ng                |
| 质粒 DNA   | 10 pg - 5 ng               |
| 病毒 DNA   | 10 pg - 10 ng              |
| cDNA或粗提物 | 1 - 5 μl（不超过PCR反应总体积的1/10） |

## 【PCR条件】

| Step                   | Temperature | Duration  | Cycles |
|------------------------|-------------|-----------|--------|
| Initial Denaturation   | 98°C        | 30 sec    | 1      |
| Denaturation           | 98°C        | 10 sec    | 25-35  |
| Annealing <sup>a</sup> | 60°C        | 30 sec    |        |
| Extension <sup>b</sup> | 68°C        | 15 sec/kb |        |
| Final Extension        | 68°C        | 5 min     | 1      |

a. 退火温度可在55-65°C之间优化。

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扩增产物或需提高产物量，请适当延长延伸时间。

## 【常见问题与解决方案】

### • 无产物或产物量少

- 重复实验避免加样错误
- 优化引物设计
- 设置退火温度梯度，优化合适的退火温度
- 使用高纯度模板并适当增加模板用量
- 适当增加延伸时间
- 增加循环数至35 - 40个循环
- 增加 $Mg^{2+}$  浓度至3 - 4 mM

### • 有非特异性扩增产物或弥散条带

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

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的合格产品。

在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。



- 蓉为基因/Exongen Biotech Co., Ltd
- 咨询热线/400-0800-717
- 技术支持/support@exongen.com

- 网址/www.exongen.com
- 销售/sales@exongen.com
- 售后/service@exongen.com