

2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus)

(2×高保真快速 PCR 预混液)

产品信息

货号	名称	规格
NA202-1 ml	2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus) (2×高保真快速PCR预混液)	1 ml
NA202-5×1 ml	2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus) (2×高保真快速PCR预混液)	5×1 ml
NA202-15×1 ml	2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus) (2×高保真快速PCR预混液)	15×1 ml

产品简介

2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix 是通过定向进化改造的 KOD DNA 聚合酶结合新型 DNA 聚合酶延伸因子而获得的 2×PCR Mix。该产品具有扩增速度快(<1Kb, 1sec/Kb; 1-10Kb, 3-10sec/Kb, >10kb, 10-15sec/Kb), 保真度高(约为普通 Taq 酶的 80 倍), PCR 产物浓度高, 对 PCR 抑制因素耐受度高, 可应用于含有尿嘧啶(dU)的模板或含有肌苷(dI)和尿嘧啶(dU)的引物的扩增等特点。2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix 是一种优化的即用型快速扩增预混液, 只需加入引物和模板即可进行扩增, 扩增后可直接电泳检测, 提高了检测通量和结果的重现性, 适合对扩增速度、保真度、及 PCR 产物浓度有要求的大规模筛选。

储存条件

-20°C保存

使用说明

- 1、将 2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus)置于冰上溶解, 上下颠倒轻轻混匀后短暂离心。
- 2、将 PCR 管置于冰上, 并依次加入下列组分:

2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix (Dye Plus)	25 µl
Primer 1(10 µM)	2 µl
Primer 2(10 µM)	2 µl
Template DNA	10 pg - 1 µg ^a
ddH ₂ O	To 50 µl

OriNote: (a) 不同模板最佳反应浓度不同。对于 50 µl 反应体系推荐模板使用量: ①质粒与噬菌体 DNA 为 0.01-30 ng; ②基因组 DNA 为 5-200 ng。

- 3、用移液器轻轻吹打混匀, 室温离心数秒, 将液体离心至管底。
- 4、使用下述推荐的热循环条件进行 PCR:

Step	Temperature(°C)	Time	Number of cycles
预变性 ^a	98°C	30 sec	1 cycle
变性	98°C	10 sec	
退火 ^b	60°C	5 sec	30-35 cycle
延伸	68°C	1s-15s/kb ^c	
终延伸	68°C	5-10 min	1 cycle

OriNote: (a) 该预变性条件适用于绝大多数扩增反应, 当模板结构复杂时, 可将预变性时间延长至 5 -

10min; (b) 退火温度需根据引物的 T_m 值进行调整, 一般设置成低于引物 T_m 值 $3 \sim 5^\circ\text{C}$ 即可, 当模板结构复杂时, 可通过设置退火温度梯度 PCR 来确定引物与模板结合的最佳退火温度, 并延长延伸时间来实现高效扩增; (c) 对于产物在 1 kb 以内的 PCR 反应, 延伸时间可设置为 1sec; 产物在 1 kb-10kb 的 PCR 反应, 按 3-10 sec/kb 设置延伸时间, 长于 10 kb 产物, 按 10-15 sec/kb 设置延伸时间。对于部分扩增难度较高的模板, 可适当增加延伸时间。

数据展示

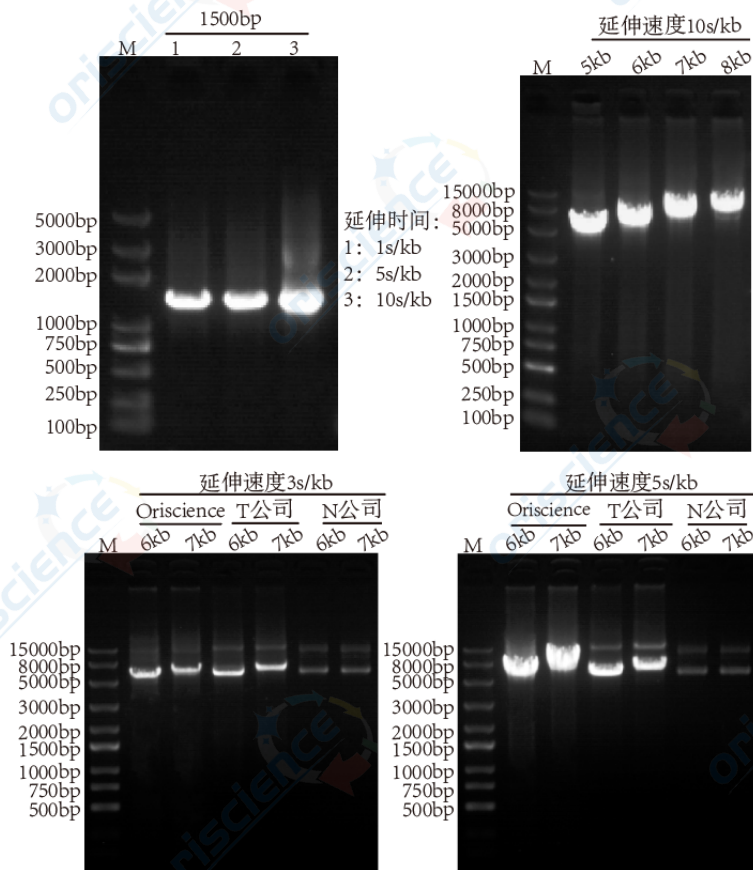


图 1. 2×Oriscience Ultra-Fast HiFi Prime PCR Mix 不同延伸速度扩增不同大小 DNA 片段。

注意事项

1. 使用本产品前, 一定要完全融化, 并上下颠倒轻轻混匀后才能使用, 尽量避免起泡。
2. 实验过程中除了酶活性丧失外, 下列因素也可能导致扩增失败: (1) 模板太多或太少; (2) 样品中存在 Mg^{2+} 络合剂, 导致 Mg^{2+} 实际浓度过低 (3) PCR 仪温度不准 (4) 临床来源的样品中含有未知的 Taq 酶抑制剂; (5) 引物部分降解; (6) dNTP 部分降解; (7) 反应体系配制错误。
3. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。

常见问题及解决方法

Q1: 如果存在非特异性扩增条带, 如何提高特异性?

- a. 引物: 检查人工合成的引物是否因储存条件不当导致降解, 建议用新合成的引物尝试; 引物的设计是否合理, 可利用 BLAST 检查引物的特异性。
- b. 模板: 长时间的放置或反复冻融会引起降解, 应该使用新鲜制备的 DNA 双链作为 PCR 模板; 如果模板为 cDNA 时, 需要测定所用 RNA 的纯度、完整度以及逆转录是所用引物。
- c. 酶: PCR 所使用的酶会因储存条件或运输不当导致失活, 建议更换新的酶或用另一来源的酶重新开始实验。

Q2: 如果没有得到扩增产物, 排查时首先要考虑哪些参数?

- a. 保证所有的 PCR 组分都包含在反应中。并且应始终包括阳性对照, 以确保每个组分都存在且功能正常。
- b. 如果实验设计没有问题, 则 PCR 的循环数可适当增加 (一次 3-5 个循环), 最多 40 个循环。增加循环数可以克服低丰度模板或由于引物中的杂质或引物的低启动效率而导致模板无法访问的问题。
- c. 如果增加循环数不能改善结果, 则 PCR 条件也许对特定引物或模板过于严格。考虑修改 PCR 条件如下: (1) 以 2°C 为增量降低其退火温度。(2) 增加延长的时间。(3) 增加模板量, 以确定最佳模板量。

相关产品

名称	货号	规格
NB101-100 T	Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	100 T
NB401-100 T	Oriscience Gel Recovery Kit (胶回收试剂盒)	100 T
NA201-1ml	2×Oriscience Fusion Master Mix (Dye Plus) (2×高保真酶预混液)	1 ml
NA101-1 ml	2×Oriscience Taq Master Mix(Dye Plus) (2×Taq 预混液)	1 ml
NA102-1 ml	2×Oriscience Flash Taq Mix(Dye Plus) (2×Flash Taq 预混液)	1 ml
NC301-100g	Agarose (电泳级琼脂糖)	100g

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

www.oriscience.com

Tel: 400-158-2128

Emails: order@oriscience.Com

technical_support@oriscience.com

