

版本号: KP241015

## Ultra HiFidelity PCR Kit II

### 超强高保真PCR试剂盒 II

目录号: KP213

#### 产品内容

产品组成	KP213-01	KP213-02	KP213-03
2×UltraHiFi Mix II	1 ml	5×1 ml	3×5×1 ml
PCR Enhancer	500 μl	500 μl	3×500 μl
6×DNA Loading Buffer (Blue)	1 ml	2×1 ml	3×2×1 ml
ddH <sub>2</sub> O	1 ml	5 ml	3×5 ml

#### 储存条件

本产品需要干冰运输。

收到本产品后，请立即置于-30~-15℃下保存。保质期24个月。

---

## 产品简介

本产品是一种新型高保真PCR扩增预混液。适用于PCR相关的克隆和检测。

扩增预混液中的HiFi DNA Polymerase是通过定向分子进化技术开发得到的新型超强高保真DNA聚合酶。改造增强了酶的3'-5'外切酶活性（Proofreading活性），提高了DNA扩增过程中的真实性；同时，还增强了酶对模板的亲合力，提升了酶的灵敏度和延伸能力。进而提升了本产品的扩增效率和后续克隆的成功率。此外，本产品中的DNA聚合酶还具有热启动（Hot Start）功能，可有效的控制低温情况下的非特异扩增和酶活损耗，进而保证了PCR扩增的特异性和稳定性。

本产品为一管式预混Mix形式，实验时，只需加入模板和引物即可进行PCR扩增反应，操作简便。除此之外，本产品中还整合了PCR Enhancer组分，可以提高Ultra HiFidelity PCR Kit II对PCR反应抑制剂的耐受能力和对不同GC含量模板的适应能力，因此可以在扩增高级结构复杂的产物和PCR抑制剂含量较高的PCR体系时添加使用。

本产品的PCR产物为平末端，可直接使用平末端克隆载体（如TIANGEN零背景快速连接试剂盒-VT205/VT206）或者无缝克隆技术（如TIANGEN EasyGeno快速重组克隆试剂盒-VI201/VI202）进行基因克隆。

## 产品特点

**延伸力强：**扩增速度可达5 sec/kb，扩增产物可达20 kb。

**普适性好：**能够识别GC含量30%~80%的不同物种DNA片段。

**高灵敏度：**基因组模板用量可低至1 ng。

**操作简便：**只需加入模板和引物，轻松配好体系，PCR产物平末端，纯化后可直接用于无缝克隆。

## 适用范围

用于DNA的高保真扩增，如基因表达克隆、基因定点突变、基因组点突变的分析（SNP）等。

---

## 操作步骤

1. 将模板DNA在冰上解冻；2×UltraHiFi Mix II，PCR Enhancer和ddH<sub>2</sub>O在室温（15-30℃）解冻，解冻后速置于冰上备用。使用前将2×UltraHiFi Mix II 涡旋振荡混匀。
2. 按照下表所示配制反应体系。

组分	50 μl反应体系加入量	反应浓度
DNA Template	Variable <sup>2</sup>	-
Primer F <sup>1</sup> (10 μM)	1.5 μl	0.3 μM
Primer R <sup>1</sup> (10 μM)	1.5 μl	0.3 μM
2×UltraHiFi Mix II	25 μl	1×
ddH <sub>2</sub> O	To 50 μl	-

### 注意：

1. 试剂盒中赠送了PCR Enhancer（浓度为5×），在一般PCR反应中无需添加，当扩增区域含有复杂的高级结构或者GC含量超过65%且扩增效果不佳时，可以考虑在PCR体系中添加PCR Enhancer（反应浓度设置在0-1×之间，即50 μl体系中添加0-10 μl PCR Enhancer），以提升扩增效果。
2. 配制反应体系时，请全程将反应管置于冰上操作。对于多个样品，请计算所需试剂的总体积并在此基础上额外添加10%，以避免分装过程中枪头挂壁损失而导致试剂体积不足。

<sup>1</sup> 引物终浓度为0.3 μM时可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。扩增效率不高时，可增加PCR反应体系中的引物浓度；适当减少PCR反应体系中的引物浓度则可以增加PCR反应特异性。如有必要，可以在0.2-1.0 μM间进行优化选择。

<sup>2</sup> 模板DNA用量请参照如下（50 μl PCR反应体系）：

模板类型	模板用量范围	推荐模板用量
基因组DNA	1-1000 ng	100-500 ng
质粒DNA	0.01-100 ng	0.1-10 ng
cDNA	1-200 ng	50-100 ng
λ DNA	0.01-100 ng	1-10 ng



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

3. 按照下表所示进行反应程序设置。

反应温度	反应时间	反应循环数	说明
98°C	1 min	1	预变性
98°C	10 sec	35	PCR循环步骤
60°C <sup>*3</sup>	20 sec		
72°C	5-10 sec/kb <sup>*4</sup>		
72°C	5 min	1	补充延伸
4°C	Holding	1	低温保存

<sup>\*3</sup> 退火温度为60°C可以在大多数体系中获得良好的扩增结果。PCR反应特异性不高时，可以在55-68°C范围内适当调节退火温度；如果引物Tm值小于63°C，可以将退火温度按Tm值进行设定。

<sup>\*4</sup> 当扩增产物小于10 kb时，延伸速度可选5 sec/kb；当扩增产物大于等于10 kb时，延伸速度需选择10 sec/kb。

**注意：**以上反应程序仅供参考，实际情况下，客户可按照自身情况进行更改和调整。

4. 实验结果分析。

反应结束后取5 μl反应产物，混合6×DNA Loading Buffer (Blue)后，进行琼脂糖凝胶电泳检测。

### 注意事项

1. 2×UltraHiFi Mix II 使用前要充分混匀。
2. PCR Enhancer不是PCR体系的必要组分，当扩增效果不佳，非特异严重或者进行复杂模板扩增时可以考虑添加。