

描述: RAPA HiFi DNA 聚合酶, 其来源于高保真 DNA 聚合酶, 并加入了增强的延伸结构, 使其具有超保真性能 (~120 倍 Taq)、长片段扩增能力、高产量。长片段扩增能力, 使用该酶可轻松扩增 8kb 的基因组 DNA、20kb 的 λDNA。该酶具有 6kb/min 以上的延伸速度。该 PCR Mix 具有 5'-3' 的聚合酶活性、强 3'-5' 的外切酶活性, 产物为平末端。

特点和用途

I 超保真扩增: ~120 倍 Taq 的保真性能, 是载体构建、点突变、NGS 模板扩增、基因合成的最佳用酶。

II 快速扩增: 具有 6kb/min 的扩增能力。

III 长片段扩增: 质粒、λDNA 等简单模板可以有效扩增 >20 kb, 基因组可以有效扩增 >8 kb, cDNA 可以有效扩增 >8kb。

组分

名 称	40Tx50μl	400Tx50μl
5xRAPA HiFi PCR Mix	400 μl	1 ml x4

储存及注意事项:

(1) 长期储存置于 -20°C 以下, 可保存 3 年。

(2) 1xRAPA HiFi Mix 中含 RAPA HiFi 酶(20mU/μl)、Mg²⁺(1.5 mM), dNTP(0.2 mM), 红色指示染料。

(3) 引物、模板使用参考表

在 1x 反应体系下	引物浓度 (nM)	模板浓度 (ng/μl)
<3kb	200	基因组 (0.01-1)
		简单模板 (0.01-0.1)
>3kb	100	基因组 (0.05-2)
		简单模板 (0.01-0.1)

(4) 扩增片段 GC 含量 >65% 时, 推荐添加 5xQ Solution (货号: A3002) 至 1x 浓度, 来提升 GC 含量的扩增性能。

使用方法

1. 按照如下组分配制 50 μl PCR 反应体系:

5xRAPA HiFi PCR Mix	10 μl
上游引物(10 μM)	1 μl
下游引物(10 μM)	1 μl
模板 DNA	x μl
ddH ₂ O upto	50 μl

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

		<1kb	1-3kb	>3kb
预变性	95°C	1min	1min	1min
循环 1	95°C	15s	15s	15s
5°Cycle	65°C	30s	90s	2kb/min
循环 2	95°C	15s	15s	15s
23°Cycle	55°C	15s	15s	15s
	72°C	30s	90s	2kb/min
末延伸	72°C	2min	2min	5min

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 T_M 值 (50-70°C) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 28 (5+23), 如产物扩增亮度不足, 则增加循环 2 的次数到 25-28 个, 通常不宜超过 28。(2) 如果仍然不能获得良好的扩增结果, 则可以改变, 循环 2 中的退火温度为 50-65°C (上表中为 55°C)。(3) 尽管该酶具有 6kb/min 的延伸速度, 在实际应用中采用 2kb/min 的延伸速度时, 总能获得更高的产量, 因此建议采用该参数来设置 PCR 程序。

3. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5 μl, 电泳结束在紫外灯下检测条带。