

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 (~280 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 λ DNA、8kb 的 cDNA。该酶具有 6kb/min 以上的延伸速度。该酶具有 5'-3' 的聚合酶活性、强 3'-5' 的外切酶活性, 产物为平末端。

组分

名称	数量
RAPA HiFi DNA Polymerase(5 U/ μ l)	100 μ l
2xRAPA HiFi Buffer	1 ml \times 5

注意: 2xRAPA HiFi Buffer 中含有 3mM Mg²⁺, 无需再单独添加。

主要特征

- (1) 超保真扩增: ~280 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。
- (2) 快速扩增: 具有 6kb/min 的扩增能力。
- (3) 长片段扩增: 质粒、 λ DNA 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。

储存: 长期储存置于 -20°C 以下, 可保存 2 年; 短期使用置于 4°C (3 个月) 保存。

使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

2xRAPA HiFi Buffer	12.5 μ l
RAPA HiFi DNA Polymerase(5 U/ μ l)	0.25 μ l
dNTP Mixture (10 mM each)	0.25 μ l
上游引物(10 μ M)	1 μ l
下游引物(10 μ M)	1 μ l
模板 DNA	1-250 ng
ddH ₂ O	up to 25 μ l

*模板 DNA 用量参数(25 μ l 反应体系)

模板 DNA (目的片段 \leq 20kb)	5-250 ng Genomic DNA
	0.1-10 ng Plasmid DNA
	1-2 μ l cDNA from RT reaction

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

循环数	温度	时间
预变性	95°C	1min
循环 1	95°C	10s
5 Cycles	65°C	6kb/min
循环 2	95°C	10s
23 Cycles	55°C	10s
	72°C	6kb/min
未延伸	72°C	2min

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 TM 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. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5 μ l, 电泳结束在紫外灯下检测条带。

4. 注意事项:

(1) 当模板 GC 含量 >65% 时, 请添加 5xQ-Solution (Cat. No.: A3002)。

(2) 当扩增片段 <1kb 时, 延伸时间可直接使用 15s, 当扩增片段 >5 kb 时, 按照 2-3 kb/min 的延伸时间进行设置, 能获得更高的产量。

(3) 由于不同的 PCR 管其导热性能有所不同, 通常 PCR 采用 25 μ l 体系可以获得更高的产量。