



## **2× UltraHiPF® PCR Mix User Manual**

### **2× UltraHiPF® PCR Mix**

Cat. No: PC033 (1 ml)

Cat. No: PC034 (5 ml)

GeneCopoeia, Inc.      广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城  
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼  
邮编: 510663  
电话: 4006-020-200  
邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)  
网址: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com) (英文)  
[www.igenebio.com](http://www.igenebio.com) (中文)

© 2024 GeneCopoeia, Inc.

## 2× UltraHiPF® PCR Mix

- I. 产品描述
- II. 产品组分及存储
- III. 实验前准备
- IV. 实验过程
- V. 使用许可与质量保证

### I. 产品描述

2× UltraHiPF® PCR Mix 是一款基于 UltraHiPF® DNA Polymerase 预混型 Mix。UltraHiPF® DNA Polymerase 是一种耐热的超保真 DNA 聚合酶，具有 5'-3'聚合酶活性和 3'-5'外切酶活性，能够读取和扩增含有尿嘧啶和次黄嘌呤的模板，能够扩增富含 GC 或 AT 的模板，能扩增低拷贝数的基因组，不同种属来源 DNA 模板均能扩增超过 12 kb 的片段。使用 Sanger 测序的方法进行检测，该酶突变率比 Taq DNA 聚合酶低 55 倍。使用该产品扩增得到的 PCR 产物为平滑末端。

2× UltraHiPF® PCR Mix 里面的酶是 UltraHiPF® DNA Polymerase，具有 3' -5' 外切酶活性。如需进行 TA 克隆的加 A 步骤，必须对 PCR 产物进行纯化。该产品无核酸内切酶活性，也无核酸污染。

### II. 产品组分及存储

| 货号    | 产品                    | 规格    | 存储条件                   |
|-------|-----------------------|-------|------------------------|
| PC033 | 2× UltraHiPF® PCR Mix | 1ml   | -20°C 储存至少 12 月，避免反复冻融 |
| PC034 | 2× UltraHiPF® PCR Mix | 1ml×5 | -20°C 储存至少 12 月，避免反复冻融 |

### III. 实验前准备

- 1) 防止 EDTA 浓度过高抑制 PCR 反应，模板和引物的工作液需要用 0.1xTE 或者无核酸酶灭菌 H<sub>2</sub>O 进行稀释。
- 2) 实验操作时，建议穿戴实验服、一次性手套和口罩。

## IV. 实验过程

### 常规 PCR 体系

1. 各组分解冻后混匀、瞬离，按照下表用量在 PCR 管中加入每个反应所需的试剂组分

| 试剂                    | 体积                       | 终浓度                             |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 2× UltraHiPF® PCR Mix | 12.5µl                   | 1x                              |
| Forward Primer 10 µM  | 1µl                      | 0.4µM                           |
| Reverse Primer 10 µM  | 1µl                      | 0.4µM                           |
| Template              | Optional                 | 1pg~10ng (质粒)<br>10~250ng (基因组) |
| ddH2O                 | Up to 25 µl <sup>a</sup> |                                 |

2. 按照以下条件进行 PCR 反应：

| 温度                              | 时间                     | 循环    |
|---------------------------------|------------------------|-------|
| 98℃ <sup>b</sup>                | 1~3 min <sup>c</sup>   | 1     |
| 98℃                             | 10~15 sec <sup>c</sup> | 25-35 |
| T <sub>m</sub> ±3℃ <sup>d</sup> | 10~30 sec <sup>d</sup> |       |
| 72℃                             | 15~30 sec/kb           |       |
| 72℃                             | 7 min                  | 1     |
| 4℃ hold                         |                        |       |

注：

1. 反应体系可以增加至 50µl，各组分的终浓度不变。
2. PCR 反应在冰上配制后，直接置于预热至 80℃ 的 PCR 仪上进行反应，可增强 PCR 反应的特异性，减少非特异性扩增。
3. 大部分的模板预变性时间 1 min，每个循环变性时间 10 sec 即可，部分困难模板可以适当提高预变性时间到 3min，每个循环变性时间 15 sec。
4. 根据该酶反应体系的特性，为了获得更好的特异性，退火温度应尽量高于引物 T<sub>m</sub> 值，在 +3℃ 范围内即可。退火时间过长可能导致扩增产物呈弥散状。因此，推荐退火时间设置为 10 sec。对于一些困难模板，退火时间可在 10~30 sec 之间调整。

### 长片段 PCR

2× UltraHiPF® PCR Mix 具有卓越的高特异性和长片段扩增能力，一般扩增超过 12kb 的片段，建议增加模板量（基因组建议增加到 100ng/50µl），降低循环中的变性温度，提高引物的 T<sub>m</sub> 值（不超过 68℃），延伸温度调整为 68℃。反应条件可见下表

| 温度             | 时间           | 循环    |
|----------------|--------------|-------|
| 94℃            | 3 min        | 1     |
| 94℃            | 10~15 sec    | 30~35 |
| T <sub>m</sub> | 30 sec       |       |
| 68℃            | 30~60 sec/kb |       |
| 68℃            | 7 min        | 1     |
| 4℃ hold        |              |       |

### 高 GC 片段 PCR

2× UltraHiPF® PCR Mix 能够高特异性高产量的扩增常规聚合酶无法扩增的高 GC 含量片段，使用本说明书常规的 PCR 体系和程序已经能够解决绝大部分的扩增实验。

### 低 GC 片段 PCR

针对低 GC 含量的扩增片段，建议降低循环中的变性时间至 2sec，引物的 T<sub>m</sub> 值调整为 65℃，延伸温度调整为 65℃~68℃，并且采用“亚循环”来增加扩增的产量。反应条件可见下表

| 温度               | 时间                       | 循环    |
|------------------|--------------------------|-------|
| 94℃              | 2-3 min                  | 1     |
| 94℃              | 2 sec                    | 30~35 |
| 68℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 63℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 68℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 63℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 68℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 63℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 68℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 63℃ <sup>e</sup> | 15~30 sec <sup>f</sup>   |       |
| 68℃              | 大于 4kb 根据需要 <sup>g</sup> |       |
| 68℃              | 7 min                    | 1     |
| 4℃ hold          |                          |       |

注:

1. 建议引物 T<sub>m</sub> 值调整为 65℃，那么 4 个亚循环的温度就可以采用 68℃和 63℃。如果 T<sub>m</sub> 值是 62℃，那么 4 个亚循环的温度就可以采用 65℃和 60℃。太低的 T<sub>m</sub> 值不利于低 GC 片段的扩增。
2. 亚循环的时间 15~30 sec 皆可，如果扩增长度低于 2kb，那么 15 sec 即可。
3. 由于 4 个亚循环已经进行了低温扩增，因此低于 4kb 的片段，不需要增加额外的 68℃延伸。如果大于 4kb 的片段，实际计算长度为“扩增长度-4kb”，按 30~60 sec/kb 来设定额外的 68℃延伸的时间。

## V. 使用许可与质量保证

### 使用限制

以下条款适用于 2× UltraHiPF® PCR Mix 产品。若您不能接受这些条款，请在 5 个工作日内将产品完整退还给 GeneCopoeia。产品购买者需遵守最终用户限制许可条例。该产品仅限于实验科学研究用，不得用于人体或临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途。未经 GeneCopoeia 事先书面同意，本产品不得转售，不得重新包装或修改后转售，不得用于生产商用产品。

### 质量保证

GeneCopoeia 保证产品与产品数据表中描述的规格保持一致。若经 GeneCopoeia 证实产品未达到规格要求，GeneCopoeia 将为您替换产品。若无法替换，GeneCopoeia 将退款给购买者。此质量保证仅适用于最初产品购买者。GeneCopoeia 仅负责替换产品或退还实际的购买金额。对于由使用或不正确使用产品产生的损害或使用其他相关材料和试剂产生的损耗，GeneCopoeia 不承担责任。GeneCopoeia 不提供任何形式的明示的或者默示的保证，包括对适销性、适用于特定用途的默示保证。

GeneCopoeia 致力于为消费者提供高质量的研究产品。如果您对 GeneCopoeia 的产品有任何问题或疑虑，请拨打电话 4006-020-200 联系我们。

© 2024, GeneCopoeia, Inc.

广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼邮编：510663

电话：4006-020-200

邮箱：sales@igenebio.com

网址：www.genecopoeia.com（英文） www.igenebio.com（中文）