

# RAPA HiFi DNA 聚合酶说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

## 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  $\lambda$  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/ $\mu$ l) | 100 $\mu$ l     |
| 2xRAPA HiFi Buffer                     | 1 ml $\times$ 5 |

**注意：**2xRAPA HiFi Buffer 中含有 4mM Mg<sup>2+</sup>，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、 $\lambda$  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 $\mu$ l     |
| RAPA HiFi DNA Polymerase(5 U/ $\mu$ l) | 0.25 $\mu$ l     |
| dNTP Mixture (10 mM each)              | 0.25 $\mu$ l     |
| 上游引物(10 $\mu$ M)                       | 1 $\mu$ l        |
| 下游引物(10 $\mu$ M)                       | 1 $\mu$ l        |
| 模板 DNA                                 | 1-250 ng         |
| ddH <sub>2</sub> O                     | up to 25 $\mu$ l |

\*模板 DNA 用量参数(25  $\mu$ l 反应体系)

|                              |                                   |  |
|------------------------------|-----------------------------------|--|
| 模板 DNA<br>(目的片段 $\leq$ 20kb) | 5-250 ng Genomic DNA              |  |
|                              | 0.1-10 ng Plasmid DNA             |  |
|                              | 1-2 $\mu$ l cDNA from RT reaction |  |

## 2. PCR 扩增循环参数

(1) 扩增片段 $<5$ kb 时采用如下程序

| 循环数                   | 温度                 | 时间      |
|-----------------------|--------------------|---------|
| 1 <sup>st</sup> Cycle | 95 $^{\circ}$ C    | 1min    |
|                       | 95 $^{\circ}$ C    | 30s     |
| 25-35 Cycles          | 50~60 $^{\circ}$ C | 30s     |
|                       | 72 $^{\circ}$ C    | 6kb/min |
| Last Cycle            | 72 $^{\circ}$ C    | 2min    |

(2) 扩增片段 $>5$ kb 时采用如下程序

| 循环数                   | 温度                 | 时间        |
|-----------------------|--------------------|-----------|
| 1 <sup>st</sup> Cycle | 92 $^{\circ}$ C    | 1min      |
|                       | 92 $^{\circ}$ C    | 10s       |
| 25-35 Cycles          | 50~60 $^{\circ}$ C | 30s       |
|                       | 72 $^{\circ}$ C    | 2-3kb/min |
| Last Cycle            | 72 $^{\circ}$ C    | 2min      |

3. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5  $\mu$ 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 5 $\times$  Q-Solution。

(2) 当扩增片段 $<1$ kb 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  $\mu$ l 体系可以获得更高的产量。