

## 产品概述

AmpHifi XL Premix 是由热启动型高保真 DNA 聚合酶、反应缓冲液和 dNTP Mixture 组成的 2×预混型试剂。使用基于酶工程定向进化得到的高保真热稳定 DNA 聚合酶，具有极强的 3'至 5'外切酶活性，在 PCR 过程中拥有极低的错配率。通过特异性抗体修饰，在常温下无 5'至 3'聚合酶活性和 3'至 5'外切酶活性，可进行高特异性的热启动（Hot Start）PCR。缓冲液含有延伸辅助因子，维持扩增过程的稳定高效，使用人基因组为模板，可轻松获得 15Kb 的长片段扩增子，搭配使用附带的 PCR Enhancer 可高特异性、高效地扩增 GC rich 区（80%），可轻松实现常规基因克隆、长片段扩增等实验。

## 产品信息

产品名称	货号	规格
AmpHifi XL Premix	BR3M401-03	24T
长片段高保真 DNA 聚合酶预混液	BR3M401-06	96T

## 产品组分

组分名称	组分编号	BR3M401-03	BR3M401-06
PCR Enhancer	3M401-A	120μL	480μL
AmpHifi XL Premix	3M401-B	600μL	1200μL ×2

## 保存条件

-20℃（长期保存）；4℃可保存三个月。使用前请先轻柔混匀，并避免反复冻融。

## 注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 请使用高质量、高纯度模板，扩增超过 10Kb 的片段时，模板质量将明显影响扩增结果。
3. DNA 聚合酶经单克隆抗体修饰，反应体系可于常温配置，但预混液在使用前请置于冰上，使用后请及时置于冰箱保存。
4. 引物设计需满足一般原则，如果 5'端具有修饰性序列，即与模板非配对序列，则不参与 Tm 值计算。
5. 如果模板 GC 含量超过 65%，且使用一般方法难以扩增或扩增效果不理想时，建议在 50μL 反应体系中添加 1-5μL 的 PCR Enhancer，直至达到良好扩增效果，但不建议添加量超过 5μL。一般 2μL 的 PCR Enhancer 就足以满足绝大多数复杂模板的扩增。

## 使用方法

### 1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂室温或冰面上解冻后混匀，瞬时离心。按照表 1 配置反应液：

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
模板	X	0.1ng-500ng
Primer1 (10 μM)	2	0.2-0.6 μM
Primer2 (10 μM)	2	0.2-0.6 μM
AmpHifi XL Premix	25	
PCR Enhancer	1~5	非必须
ddH <sub>2</sub> O	up to 50	
Total	50	

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

### 2. PCR 扩增程序

2.1 根据表 2 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序：

表 2. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
预变性	95°C	3min <sup>a</sup>	1
变性	95°C	10s	
退火	60°C <sup>b</sup>	15s	25~35
延伸	72°C	1min/Kb <sup>c</sup>	
完全延伸	72°C	5min	1
保温	4°C	∞	1

注： a 对于大多数模板，预变性设置为 3min。若模板 GC 含量过高，可延长至 15min。

b. 根据引物  $T_m \pm 2$  调整退火温度，推荐设置为 60°C。当扩增子大于 10Kb 时，使用两步法 PCR 可提高产物特异性。

c. 扩增 10Kb 以下的片段时设置为 1min/Kb，扩增 10~20Kb 的片段时，延伸总时长设置为 10min。