



HiFi Max DNA Polymerase

(高保真DNA聚合酶) CAT. NO. ZJ0002

1. 产品说明

高保真 DNA 聚合酶 (HiFi Max DNA Polymerase) 是利用最新的酶进化系统研发的一款高保真、快速扩增 PCR 酶。该酶适用于常见 PCR 并提供高性能扩增活性。该聚合酶可以高保真并快速扩增 DNA 片段, 保真度比 Taq DNA 聚合酶高 50 倍以上, 扩增速度达到 15-30 s/kb。HiFi Max DNA Polymerase 还适用于纯度欠佳、目的 DNA 含量低的模板的扩增。该酶具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和 3'→5' 外切酶活性, 扩增产物为平端。该聚合酶能有效扩增长度 5kb 以上的片段, 在室温放置一周仍具有较高活性, 除此之外, 该酶抗干扰能力较强, 对于纯度较差的模板片段吗, 仍具有很好的扩增效果。

2. 产品组份

本产品含有 HiFi Max DNA Polymerase (2U/μL)、10× Buffer、10× DNA Loading Buffer 和 dNTP Mix (10 mM each)。本产品可以满足 50 个反应 (50μL/反应) 的使用量, 使用该产品进行 PCR 时, 需要自备 ddH₂O、正反向引物以及 DNA 模板。

试剂盒组分	含量
HiFi Max DNA Polymerase	50 μL
10× Buffer	250 μL
dNTP Mix (10 mM each)	50 μL
10× DNA Loading Buffer	250 μL

3. 保存条件:-20°C 左右保存, ≤0°C 运输。

4. 适用范围:本产品适用于以基因组 DNA、cDNA、质粒为模板的 PCR。

5. 实验流程

- 在冰上配制 PCR 反应体系;
- 使用移液枪轻柔吸取酶, 因为存储缓冲液中的高甘油含量 (50%) 可能会导致移液错误;
- 缓冲液中的高盐浓度使得 HiFi Max DNA Polymerase 往往在较高的变性和退火温度具有更好的反应效率;

6. PCR 反应体系

按照以下表格顺序与用量添加反应

组分	50 μL 体系	终浓度
ddH ₂ O	add to 50 μL	-
10× Buffer	5 μL	1×
10mM dNTPs	1 μL	200 μM each
10μM Forward Primer	1-2 μL	0.2-0.4 μM
10μM Reverse Primer	1-2 μL	0.2-0.4 μM
Template DNA ^[a]	X μL	-
HiFi Max DNA Polymerase ^[b]	1 μL (2U/μL)	0.04U/μL

a. 低复杂度 DNA (如质粒、病毒 DNA 等) 用量为每 50μL 反应体系 10pg-20ng; 高复杂度的基因组 DNA, 用量应为每 50μL 反应体积 50-250ng; 如果使用 cDNA 合成反应混合物为模板, 模板的体积不应超过最终反应体积的 1/10。

b. 扩增 4-5 kb 以上的产物时, 若产生非特异性扩增, 可适当降低 HiFi Max DNA Polymerase 酶的使用量至 0.5 μL。

7. 反应程序

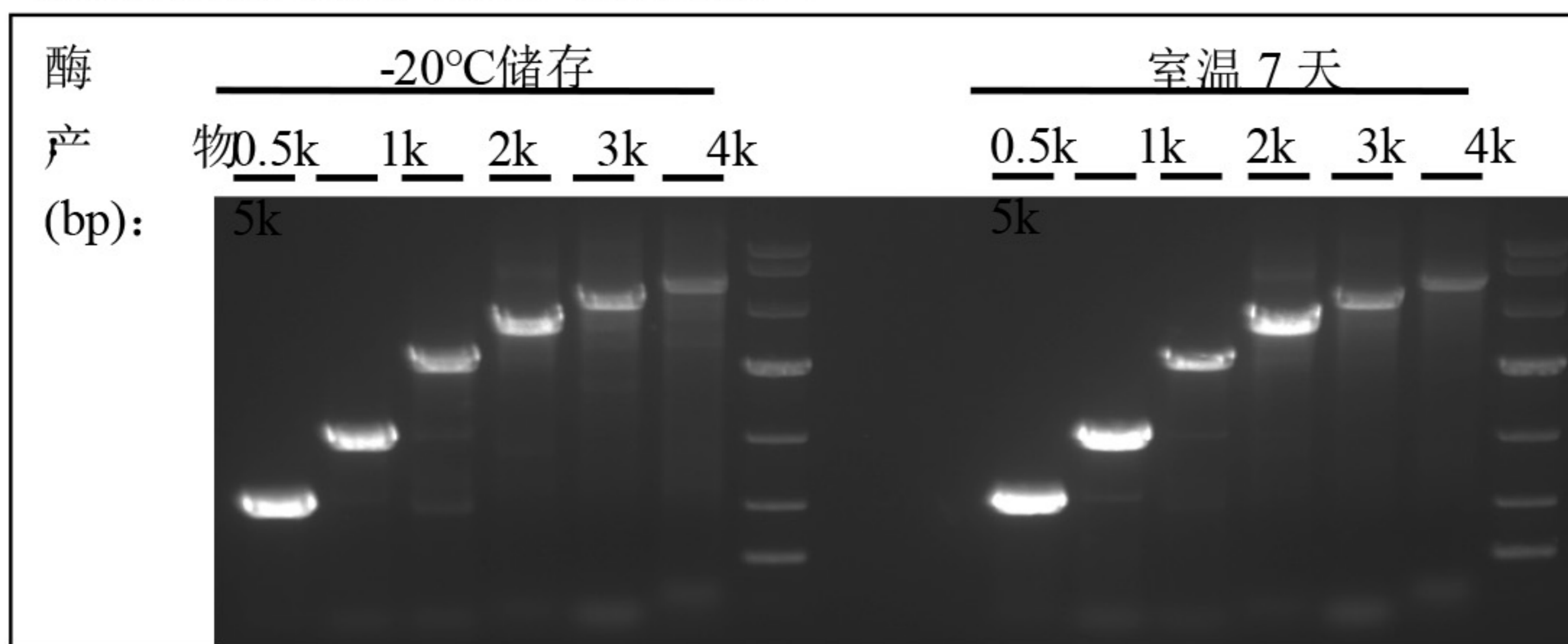
步骤	温度	时间	循环数
预变性 ^[a]	98°C	30 s	1
变性	98°C	5-10 s	30-40 ^[d]
退火 ^[b]	X°C	10-30 s	

延伸 [c]	72°C	15-30 s/kb	
彻底延伸	72°C	5-10 min	1
Hold	4°C	Hold	Hold

- 建议对大多数模板在 98°C 下进行 30s 预变性。有些模板可能需要更长的预变性时间，可以延长到 3 min。
- HiFi Max DNA Polymerase 的最佳退火温度与 Taq 酶有显著不同，前者一般高 2-4°C。当计算的引物 T_m 值在 69°C 以上时，可删除退火步骤，直接进行延伸步骤（两步法 PCR）。此外，退火温度决定扩增特异性，如果扩增特异性差，可适当提高退火温度。
- 延伸时间取决于扩增子的长度和复杂度。对于低复杂度的 DNA（如质粒、病毒 DNA 等），使用 15 s/kb；对于高复杂性的基因组 DNA，建议使用 30 s/kb。对于一些 cDNA 模板，延伸时间可以增加至每 40 s/kb，以获得最佳结果。对于较长产物的扩增，适当增加延伸时间至 30-40 s/kb 也有助于提高产量。
- 对于较长产物的扩增以及产物量小的扩增，可以适当增加循环数至 35-40 个循环。

8. 扩增效果示例

以质粒为模板，使用 HiFi Max DNA Polymerase 分别扩增 0.5、1、2、3、4、5kb 大小的目的片段，根据上述 PCR 反应体系和反应程序进行扩增实验，获得的产物电泳结果如下：



9. 常见问题与解决方案

- 扩增产物出现杂带或弥散条带：

引物	优化引物设计
退火温度	提升退火温度 2-4°C，或使用两步法 PCR
酶使用量	减少酶使用量，增加几个循环数
引物浓度	减少引物浓度至 0.2 μM
模板	使用纯度更高的模板，适当减少模板用量

- 无产物或产物量少：

引物	优化引物设计
退火温度	设置退火温度梯度，找到合适温度
延伸时间	增加延伸时间至 30-40 s/kb
循环数	增加循环数至 35-40 个循环
模板	使用纯度更高的模板，适当增加模板用量
酶用量	适当调整酶用量