

2×UltraPrecision™ High-Fidelity PCR Master Mix (Dye Plus)

160 倍超高保真 PCR 预混液，高效适配复杂模板，扩增快速便捷

产品货号：M10703

产品规格：50 μL×10 T，50 μL×200 T

储运条件：-20 °C避光保存，避免反复冻融；冰袋运输

产品简介：

PCR（聚合酶链式反应）作为分子生物学的核心技术，广泛应用于分子克隆、高通量测序、基因定点突变、长片段 DNA 扩增等科研场景。随着科研需求的升级，实验对 PCR 反应的保真度、特异性、扩增效率及模板适应性提出了更高要求，不仅需要降低扩增错误率以保障实验准确性，还需解决低丰度模板、富含 GC/AT 等复杂模板扩增困难，以及非特异性扩增、引物降解、反应耗时久等传统 PCR 技术的痛点。尤其在需要高度扩增精确性的实验中，普通 PCR 产品难以兼顾高保真与高效性，无法满足科研人员对实验结果可靠性和效率的双重诉求。

我司这款产品是专为高保真 PCR 实验设计的预混液产品。产品核心配置经精准优化，含基因改造的超高保真 DNA 聚合酶（具有极强 3'→5' 外切酶活性，保真性为普通 Taq DNA 聚合酶的 160 倍以上），搭配 dNTPs、Mg²⁺、优化反应缓冲液、强效 PCR 增强剂及反应稳定剂，以 2× 高浓度预混成型，适配多种应用场景。

注：效能等同 NEBNext® Q5® Hot Start HiFi PCR Master Mix（M0543）、TOYOBO KOD One™ PCR Master Mix -Blue-（KMM-101）及 Vazyme 2 × Phanta Max Master Mix (Dye Plus)（P525）

注：本文中 NEBNext®、Q5® 均为 New England Biolabs, Inc. 的商标及注册商标。

注：本文中 KODOne™ 为 Toyobo Co., Ltd. 的商标及注册商标。

应用范围：超高保真 PCR 快速扩增、平端克隆、无缝克隆、基因定点突变；低丰度模板、复杂模板（富含 GC/AT）扩增；高通量测序文库构建；长片段 DNA 扩增

产品特点：

- **超高保真：**保真性为普通 Taq DNA 聚合酶的 160 倍以上；
- **特异性强：**热启动聚合酶提高反应的特异性，扩增目的条带单一；
- **灵敏度高：**可扩增低至 0.5 pg 模板；
- **高效快速：**延伸速度 1-30 sec/kb，大幅缩短 PCR 反应时间；
- **长片段扩增：**质粒和基因组 DNA 可扩增 ≥20kb 的片段；
- **强耐受性：**对 PCR 抑制剂耐受，可稳健扩增低丰度、复杂模板（如富含 GC/AT）及长片段；
- **便捷省时：**含电泳指示剂，扩增后可直接点样电泳。

产品组分：

组分	50 μL×10 T	50 μL×200 T
A. 2×UltraPrecision™ High-Fidelity PCR Master Mix(Dye Plus)	250 μL	5×1 mL
B. RNase-Free Water	1.7 mL	3×1.7 mL

注：200 T 为试剂盒进行 50 μL 反应体系的总数。



注意事项:

- 使用前请充分摇匀，避免反复冻融。
- 产品低温运输/冻存时可能出现少量黄色液体，属正常现象；室温短时间放置后颠倒混匀即可消除。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明:
一、实验前准备
1. 试剂准备:

- 将试剂盒中的组分A (2×UltraPrecision™ High-Fidelity PCR Master Mix(Dye Plus))以及组分B (RNase-Free Water), 从储存条件（如-20 °C）取出，放置于冰上或冰板上。

2. 仪器准备:

- PCR仪。

二、操作步骤
1. 准备定量 PCR 反应体系:

组分	体积	终浓度
2×UltraPrecision™ High-Fidelity PCR Master Mix(Dye Plus)	25 µL	1×
10 µM 上游引物	1.5 µL	0.3 µM
10 µM 下游引物	1.5 µL	0.3 µM
模板	按类型调整	参考值见下表
RNase-Free Water	补足体系	/
总体积	50 µL	/

注：产品A组分和B组分使用前要完全融化并混匀。

注：引物终浓度可根据情况在 0.2~0.5 µM间调整，通常为 0.3 µM。

2. 50 µL PCR 反应体系模板使用量参考值:

模板类型	模板起始量
基因组 DNA	10 ng-400 ng
质粒 DNA	10 pg-5 ng
病毒 DNA	10 pg-10 ng
cDNA 或粗提物	1 µL-5 µL（不超过 PCR 反应体系的 1/10）

3. PCR 反应条件

程序	温度	时间	循环
预变性	98 °C	30 sec	1
变性	98 °C	10 sec	35
退火	65 °C	30 sec	
延伸	68 °C	15 sec/kb（按片段长度调整）	
延伸	68 °C	5 min	1

注：延伸时间根据片段的长短进行调整，目的片段长度≤2 kb，延伸时间建议按照 1-5 sec/kb设置；目的片段长度≤6 kb，延伸时间建议按照 10-15 sec/kb设置；目的片段长度>6 kb，延伸时间建议按照 15-20 sec/kb设置；



三、结果判读

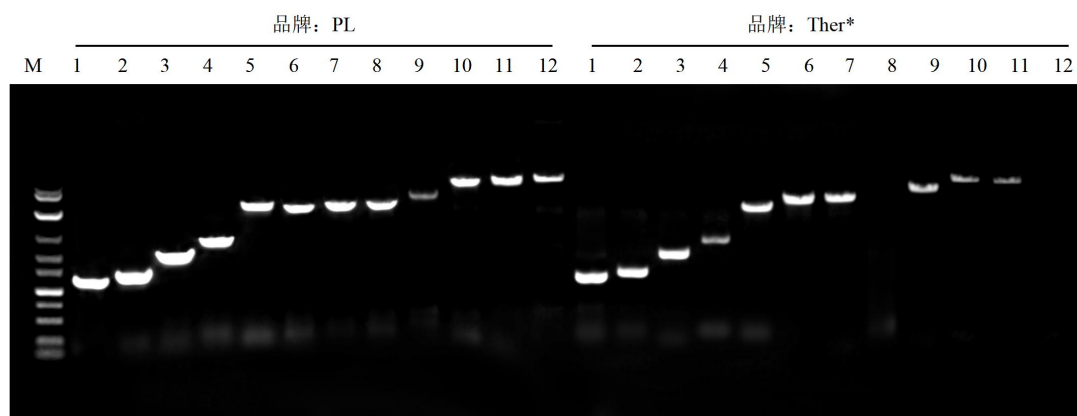


图 1.PL 产品与进口 Ther*竞品 PCR 产物对比图

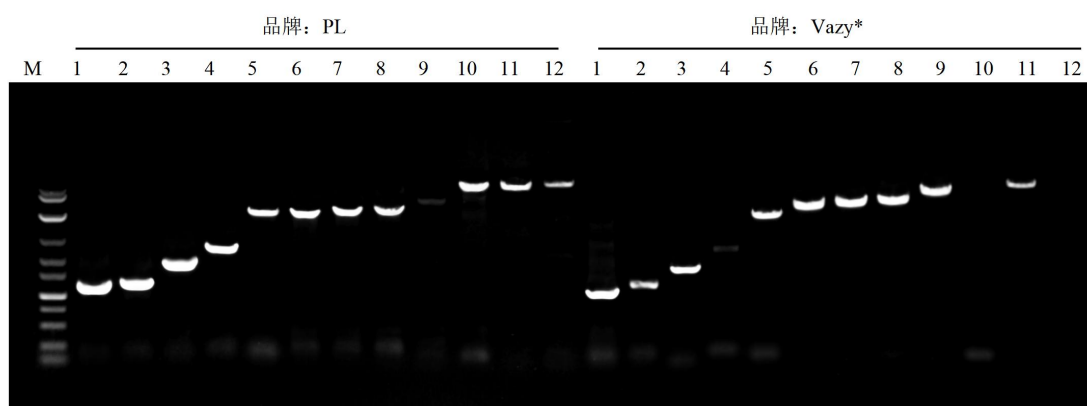


图 2. PL 产品与国产竞品 Vazy*PCR 产物对比图

结果判读： HEK 293T RNA 反转为 cDNA，模板稀释 5 倍后，每 25 μ L PCR 体系加 1 μ L，PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳，片段大小、亮度符合预期，与竞品相比，我司产品结果条带更亮，扩增效率优异。扩增条带基因名称及大小如下：PDHA1(1.1 kb)、PGK1(1.2kb)、ADAR-F2(1.9 kb)、ITGB1(2.4 kb)、HERC1-F1(5.8 kb)、ADAR-UTR(5.7 kb)、TET2(5.9 kb)、TET1(6.2 kb)、mTOR(7 kb)、SMG1(10.1 kb)、HERC1-F2(10.9 kb)、HERC1-FL(14.5 kb)。

常见疑问与解答：

- 问：无产物或产物量少？
 - 答：a. 重复实验排除加样错误；
 - b. 优化引物设计；
 - c. 设置退火温度梯度（55-65 $^{\circ}$ C）；
 - d. 使用高纯度模板并适当增加用量；
 - e. 延长延伸时间；
 - f. 增加循环数至 35-40；
 - g. 提高 Mg^{2+} 浓度至 3-4 mM。
- 问：出现非特异性扩增或弥散条带该如何解决？
 - 答：a. 设置退火温度梯度优化；
 - b. 降低引物终浓度至 0.2 μ M；
 - c. 优化引物设计；
 - d. 缩短延伸时间；
 - e. 减少循环数至 25-30；
 - f. 使用高纯度模板并减少用量。

