**Kofu HiFi Amplification Mix**

**货号：KTSM2513 - KTSM2514**

**■ 产品描述：**

Kofu HiFi Amplification Mix是一种新型高保真PCR扩增预混液，适用于高通量测序文库的PCR扩增。具有极高的扩增效率和广泛的模板适应性，具有很高的保真性，是普通Taq酶的100倍。配以精心优化的反应缓冲，可以实现高通量测序文库的低偏好性、高效、高稳定性扩增。本品包含PCR扩增所需所有组分，只需加入模板引物即可进行反应，使用便捷；还包含特殊的保护剂，使其在长期存放或反复冻融后仍能保持稳定的活性。扩增产物为平端，可直接用于平端克隆。

**■ 产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **KTSM2513 (24rxn)** | **KTSM2514 (96rxn)** |
| 2🞨 Kofu HiFi Amplification Mix | 600 μl | 4🞨600 μl |

**■ 储存条件：**

-30 ~-15℃保存。可于-20~0℃运输。

**■ 适用范围：**

高通量测序文库扩增。

**■ 使用方法：**

所有操作应于冰上进行， Kofu HiFi Amplification Mix解冻后请上下颠倒混匀，使用后及时放回-20℃保存。

1. 反应体系如下：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体系** |
| Adapter Ligated DNA | 20 μl |
| 2🞨 Kofu HiFi Amplification Mix | 25 μl |
| PCR Primer Mix for Illumina | 5 μl |
| Total volume | 50 μl |

注：对于非illumina测序平台，需换用所使用测序平台相应文库扩增引物。

2. 反应程序如下：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **温度** | **时间** | **循环数** |
| 95℃ | 3 min | 1 |
| 98℃ | 20s | 8~10 |
| 60℃ | 15s |
| 72℃ | 30s |
| 72℃ | 5 min | 1 |
| 4℃ | ~ | 1 |

注：

（1）需根据引物Tm值调整退火温度，对于普通Illumina测序平台文库，建议设置为60℃；

（2）对于特殊长度文库，可酌情延长延伸时间；

（3）根据下表选择合适的循环数：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **文库类型** | **起始模板使用量** | **产出达到1μg所需循环数** |
| DNA | 100pg | 16~19 |
| 1 ng | 12~15 |
| 10 ng | 8~12 |
| 100 ng | 5~8 |
| 500 ng | 2~5 |
| 1 μg | 2~5 |

**■ 其他注意事项：**

1. 建议使用纯化过的高质量文库模板，按照说明书要求操作；

2. 对于特殊文库，如低质量文库、长片段文库，可根据反应程序中提示，调整退火温度、延伸时间和扩增循环数，以获得最佳扩增效果；

3. 调整延伸时间时，不宜超过1 min/kb。