

Hieff Canace[®] High-Fidelity DNA Polymerase

Hieff Canace[®] 高保真DNA聚合酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase	10135ES10	10 U
Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase	10135ES60	100 U
Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase	10135ES76	500 U
Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase	10135ES80	1000 U

产品描述

Hieff Canace[®] High-Fidelity DNA Polymerase 是新一代的高保真 DNA 聚合酶。该酶基于 *Pyrococcus Furiosus* DNA Polymerase, 经基因工程改造而成。其蛋白结构包含 5'→3'聚合酶结构域和经过改造的 3'→5'外切酶结构域。这种组合大幅度提升了酶的耐热性, 保真性。耐热温度达到 98°C, 保真性是 Taq DNA 聚合酶的 52 倍, 普通 Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。酶溶液中添加了独特的延伸因子, 扩增速度达到 15 sec/kb。本产品配备了优化后的酶缓冲液, 添加了 PCR 增强组分, 使得该酶具有极强的扩增效率和广泛的模板适应性, 非常适合复杂模板的扩增。扩增产物为平末端。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格			
		10135ES10 (10 U)	10135ES60 (100 U)	10135ES76 (500 U)	10135ES80 (1000 U)
10135-A	Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase (2 U/μL)	5 μL	50 μL	250 μL	2×250 μL
10135-B	2×Canace [®] PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs)	300 μL	3×1 mL	15×1 mL	30×1 mL

产品应用

基因克隆; 复杂 DNA 模板扩增; 高通量建库。

活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 74°C, 30 min 内, 摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测: 10 U 本品和 0.5 μg λDNA-Hind III, 37°C下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

切口酶残留检测: 10 U 本品和 0.5 μg IL23R 质粒, 37°C下孵育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

运输和保存方法

冰袋运输。-20°C保存, 有效期 2 年。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 2) 本产品仅作科研用途!

PCR 反应体系 (推荐冰上配制)

组分	体积	终浓度
H ₂ O	to 50 μ L	-
2 \times Canace [®] PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs)	25 μ L	1 \times
DNA 模板	适量	-
Primer 正向 (10 μ M)	2.5 μ L	0.5 μ M
Primer 反向 (10 μ M)	2.5 μ L	0.5 μ M
Hieff Canace [®] High-Fidelity DNA Polymerase (2 U/ μ L)	0.5 μ L	1 U/50 μ L

【注】: 1) **试剂使用:** 使用前要充分解冻混匀。

- 2) **聚合酶浓度:** 推荐使用 1 U/50 μ L。可以在 0.5-2 U/50 μ L 之间进行优化, 请勿超过 2 U/50 μ L。
- 3) **聚合酶添加:** 为了防止聚合酶因 3'→5'外切酶活性降解引物, 建议将聚合酶在最后一步加到反应体系中。
- 4) **Mg²⁺终浓度:** 体系终浓度为 1.5 mM。如有特殊需要, 可用 50 mM MgCl₂, 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索。
- 5) **高 GC 模板:** 在体系中加入终浓度为 3% 的 DMSO 可能有利于扩增。
- 6) **不同模板的推荐使用量 (50 μ L 反应体系):**

模板种类	扩增片段 1 kb-20 kb
基因组 DNA	50 ng-200 ng
质粒或病毒 DNA	10 pg-20 ng
cDNA	1-5 μ L (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

PCR 扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 $^{\circ}$ C	0.5-3 min	1
变性	98 $^{\circ}$ C	10 sec	} 30-35
退火	60 $^{\circ}$ C	20 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	15-30 sec/kb	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	1

- 【注】:** 1) **预变性温度和时间:** 推荐使用 98 $^{\circ}$ C。预变性推荐时间: 质粒 DNA 等简单模板为 30 sec; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 3 min; 高 GC 含量模板为 5-10 min。
- 2) **退火温度和时间:** 推荐使用 60 $^{\circ}$ C, 也可根据需要, 设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间设置为 20 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。
- 3) **延伸温度和时间:** 推荐使用 72 $^{\circ}$ C。延伸时间推荐如下: 质粒 DNA 等简单模板为 15 sec/kb; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 30 sec/kb, 根据实际情况可延长至 40 sec/kb。
- 4) **扩增产物:** 请将 PCR 扩增产物放置于 -20 $^{\circ}$ C 保存, 防止该酶降解扩增产物。扩增产物为平末端, 产物直接用于克隆, 请使用平末端连接载体。

应用实例

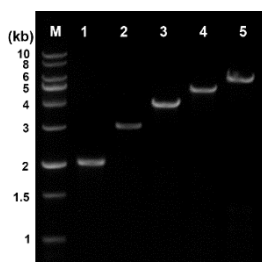


图 1: Hieff Canace[®] 高保真 DNA 聚合酶扩增 2.1 kb-6 kb 目的片段。所有基因片段均可实现高特异性、高产量扩增。模板: 拟南芥基因组 DNA, 50 ng/50 μ L; 退火温度: 60 $^{\circ}$ C; 延伸时间: 30 sec/kb。M: 1 kb ladder; 1: 2.1 kb; 2: 3.1 kb; 3: 4.2 kb; 4: 5 kb; 5: 6 kb。