

Hieff Canace[®] Gold High Fidelity DNA Polymerase

高保真DNA聚合酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff Canace [®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 高保真 DNA 聚合酶	10148ES10	10 U
Hieff Canace [®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 高保真 DNA 聚合酶	10148ES60	100 U
Hieff Canace [®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 高保真 DNA 聚合酶	10148ES76	500 U
Hieff Canace [®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 高保真 DNA 聚合酶	10148ES80	1000 U

产品描述

Hieff Canace[®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase 基于 *Pyrococcus Furiosus* DNA Polymerase, 经基因工程改造而成。该酶具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和 3'→5' 核酸外切酶活性, 其保真性是 Taq DNA 聚合酶的 52 倍, 是普通 Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。酶溶液中添加热启动因子, 极大提高了扩增的检出率和产物的特异性。酶溶液中添加延伸因子使得该酶具有长片段扩增能力, 扩增速度达到 15 sec/kb, 扩增目的片段的长度可长达 10 kb。本产品配备了优化缓冲液, 添加了 PCR 增强组分, 使得该酶适用于复杂模板的扩增。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			
		10148ES10 (10 U)	10148ES60 (100 U)	10148ES76 (500 U)	10148ES80 (1000 U)
10148-A	Hieff Canace [®] Gold High-Fidelity DNA Polymerase (2 U/μL)	5 μL	50 μL	250 μL	250 μL×2
10148-B	2×Canace [®] Gold PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs)	300 μL	1 mL×3	1 mL×15	1 mL×30

产品应用

基因克隆; 复杂 DNA 模板扩增; 高通量建库。

活性定义

用活性的大马哈鱼精子 DNA 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 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。

运输与保存方法

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!

推荐 PCR 反应体系（冰上配制）

组分	体积	终浓度
ddH ₂ O	to 50 μL	-
2×Canace® Gold PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs)	25 μL	1×
DNA 模板	适量	-
Primer 正向 (10 μM)	2.5 μL	0.5 μM
Primer 反向 (10 μM)	2.5 μL	0.5 μM
Hieff Canace® Gold High-Fidelity DNA Polymerase(2 U/μL)	0.5 μL	1 U/50 μL

- 【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 μL。可以在 0.5-2 U/50 μL 之间进行优化, 请勿超过 2 U/50 μL。
 - 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 μL 反应体系):**

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

PCR 扩增程序: 有以下三种程序可选择, 优先选择两步法程序。

两步法程序 (优先推荐):

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	1
变性	98°C	10 sec	30-35
延伸	68°C	30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

三步法程序 (常规程序):

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	1
变性	98°C	10 sec	30-35
退火	60°C	20 sec	
延伸	72°C	30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

梯度温度退火程序 (难扩增基因推荐程序):

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	1
变性	98°C	10 sec	15, 每个循环降低
梯度退火	70-55°C	20 sec	
延伸	72°C	30 sec/kb	1°C
变性	98°C	10 sec	20
正常退火	55°C	20 sec	
延伸	72°C	30 sec/kb	
终延伸	72°C	5 min	1

*不同扩增程序下的特点:

程序类型	两步法	三步法	梯度退火
速度	最快	中等	慢
特异性	高	中等	高
PCR 产量	中等	最高	中等
检出率	高	中等	高

- 【注】:**
- 1) **预变性温度和时间:** 推荐温度: 98°C, 时间: 3 min, 高 GC 含量模板 5-10 min。
 - 2) **退火温度和时间:** 推荐温度: 60°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:** 推荐温度: 72°C。时间: 30 sec/kb, 复杂模板根据实际情况可延长至 60 sec/kb。
 - 4) **扩增产物:** 请将 PCR 扩增产物放置于 -20°C 保存, 防止该酶降解扩增产物。扩增产物为平末端。