

Hieff Canace[®] Plus 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 [®] Plus High-Fidelity DNA Polymerase 高保真 DNA 聚合酶 | 10153ES10 | 10 U |
| | 10153ES60 | 100 U |
| | 10153ES76 | 500 U |
| | 10153ES80 | 1,000 U |

产品描述

Hieff Canace[®] Plus 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 83 倍, 是普通 Pfu DNA 聚合酶的 9 倍。酶溶液中添加常温可抑制聚合酶活性和 3'→5' 核酸外切酶活性的两种单克隆抗体, 可简便地进行高特异性的 Hot Start PCR, 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, 扩增目的片段的长度可长达 13 kb。本产品配备了优化缓冲液, 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 | 产品规格 | | | |
|---------|---|---------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| | | 10153ES10 (10 U) | 10153ES60 (100 U) | 10153ES76 (500 U) | 10153ES80 (1,000 U) |
| 10153-A | Hieff Canace [®] Plus High-Fidelity DNA Polymerase (1 U/μL) | 10 μL | 100 μL | 500 μL | 500 μL×2 |
| 10153-B | 2×Canace [®] Plus PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs) | 300 μL | 3×1 mL | 15×1 mL | 30×1 mL |
| 10153-C | 6×DNA Loading Buffer | 120 μL | 1 mL | 6×1 ml | 12×1 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 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。

运输与保存方法

冰袋运输。-20°C 保存。有效期 1 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

| 组分 | 体积 | 终浓度 |
|--|----------|-----------|
| ddH ₂ O | to 50 μL | - |
| 2×Canace® Plus PCR buffer (含 Mg ²⁺ , dNTPs) | 25 μL | 1× |
| DNA 模板 | 适量 | - |
| Primer 正向 (10 μM) | 2 μL | 0.4 μM |
| Primer 反向 (10 μM) | 2 μL | 0.4 μM |
| Hieff Canace® Plus High-Fidelity DNA Polymerase (1 U/μL) | 1 μL | 1 U/50 μL |

【注】: 1. 试剂使用: 使用前要充分解冻混匀。

2. Mg²⁺终浓度: 体系终浓度为 2mM。如有特殊需要, 可用 50 mM MgCl₂, 以 0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索。

3. 高 GC 模板: 在体系中加入终浓度为 3% 的 DMSO 可能有利于扩增。

4. 不同模板的推荐使用量 (25 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 | 1-2.5 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 ¹ | 98°C | 3 min | 1 |
| 变性 | 98°C | 10 sec | 30-35 |
| 退火 ² | 60°C | 20 sec | |
| 延伸 ³ | 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。