

产品概述

AmpHifi HS DNA Polymerase IV 是新一代热启动型高保真 DNA 聚合酶, 通过点突变和结构域重组表达, 大大提升对 DNA 的亲合力和连续合成能力, 对 GC Rich 模板和微量模板均有很好的兼容能力, 保真性也在原有基础上得到了提升, 约为 Taq 酶的 96 倍。AmpHifi HS DNA Polymerase IV 可适用于常规 PCR 扩增和测序文库扩增。

产品信息

产品名称	货号	规格	浓度
AmpHifi HS DNA Polymerase IV 热启动高保真 DNA 聚合酶 IV	BR3P108-51	100U	1U/ μ L
	BR3P108-54	500U	1U/ μ L
	BR3P108-56	1000U	1U/ μ L

产品组分

组分名称	组分编号	BR3P108-51	BR3P108-54	BR3P108-56
AmpHifi HS DNA Polymerase IV	3P108-A	100 μ L	500 μ L $\times$ 1	500 μ L $\times$ 2
5 $\times$ HiFi Buffer IV	3P108-B	1000 μ L	1000 μ L $\times$ 5	1000 μ L $\times$ 10

保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

注意事项

1. 无核酸酶污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理。
2. PCR 所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 请使用高质量、高纯度模板, 请勿使用含尿嘧啶的模板。
3. 本产品仅用作科研用途。

使用方法

1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂室温或冰面上解冻后, 颠倒或用手指轻弹混匀后瞬时离心, 置于冰上备用。
按照表 1 配置反应液:

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	终浓度
模板 DNA	适量 ^a	< 250ng
Forward Primer (10μM)	2 ^b	0.4μM
Reverse Primer (10μM)	2	0.4μM
5×HiFi Buffer IV	10	1×
AmpHifi HS DNA Polymerase IV ^c	1 ^c	1U/50μL
H ₂ O	to 50	
Total	50	

注: a. 基因组 DNA: 50ng-250ng, 质粒或病毒 DNA: 1pg-10ng。

b. 扩增长片段或特异性较差时, 可适当将引物终浓度降至 0.1-0.2μM; 扩增测序文库时, 推荐引物终浓度为 1μM。

c. 可根据具体应用调整酶量, 但不建议超过 5U/50μL。

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

2. PCR 扩增程序

2.1 根据表 2 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序:

表 2. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
1	98°C	1min ^a	1
2	98°C	10s	
3	55-72°C ^b	10-30s	25-35
4	72°C ^c	30s/Kb	
5	72°C	5-10min	1
6	4°C	∞	1

注: a. 推荐预变性在 98°C 下进行 1min, 若模板有难以变性的二级结构, 可最多延长至 3min。

b. 退火温度可在 $T_m \pm 2^\circ\text{C}$ 调整, 具体温度取决于引物长度和 GC 含量, 合适的退火温度可大大提升扩增成功率, 推荐在正式实验前进行优化。

c. 若引物 T_m 值 $\geq 72^\circ\text{C}$, 可将退火和延伸合并为一步, 并按 30s/Kb 延伸。