

UltraHiPF® DNA Polymerase Kit Cat. No.PC018 (100U) / PC019 (5×100U)

产品内容	产品编号	规格
UltraHiPF® DNA Polymerase (1U/μl)	PC018-01	100μl
5× HiPF Buffer (with Mg ²⁺)	PC018-02	1ml
5× Enhancer	PC018-03	1ml
25mM MgSO ₄	PC018-04	500μl
10mM dNTP	PC018-05	100μl
ddH ₂ O (DNase/RNase Free)	QP006-07	1ml

保存条件: -20 °C, 密闭保存一年有效。

■ 产品说明

UltraHiPF® DNA Polymerase是一种耐热的超保真DNA聚合酶, 具有5'-3'聚合酶活性和3'-5'外切酶活性, 能够读取和扩增含有尿嘧啶和次黄嘌呤的模板, 能够扩增富含GC或AT的模板, 能扩增低至1个拷贝的基因组, 不同种属来源DNA模板均能扩增超过12 kb的片段。使用UltraHiPF® DNA Polymerase进行扩增, 复杂的模板的扩增速度也能够达到15~30 sec/kb; 多种模板在变性、退火和延伸皆为1sec的条件下, 均能特异扩增2 kb产物。使用Sanger测序的方法进行检测, 该酶突变率比Taq DNA聚合酶低55倍。使用该产品扩增得到的PCR产物为平滑末端。

■ 酶活性单位定义

用活化化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物, 在74°C, 30分钟内, 将10nmol脱氧核苷酸摄入为酸不溶物质所需要的酶量定义为1个活性单位(U)。

■ 品质保证

无核酸内切酶活性, 也无核酸污染, 其酶纯度检测大于99%。

■ 应用

1、常规PCR体系 (所有操作在冰上进行, 各组分解冻后应充分混匀)

组分	体积	备注
5× HiPF Buffer (with Mg ²⁺)	10 μl	已经含有10mM MgSO ₄ ^a
5× Enhancer	10 μl	根据需要调整用量 ^b
Forward Primer 10 μM	2 μl	0.2~1 μM
Reverse Primer 10 μM	2 μl	0.2~1 μM
10mM dNTP	1 μl	0.2 mM
Template	Optional	1pg~10ng (质粒) 10~250ng (基因组)
UltraHiPF™ DNA polymerase (1U/μl)	1 μl	0.5~2U ^c
ddH ₂ O	Up to 50 μl	

2、常规PCR条件:

98°C ^f	1~3 min ^d	} 25-35 cycles
98°C	10~15 sec ^d	
T _m ±3°C ^e	10~30 sec ^e	
72°C	15~30 sec/kb	
72°C	7 min	
4°C hold		

该产品仅限于实验科学研究用, 若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途, 本公司概不承担任何责任。

3、使用注意事项

- 体系中已含有终浓度为2 mM Mg²⁺，如有需要，可用试剂盒中提供的25 mM MgSO₄，以0.2~0.5 mM为间隔向上摸索Mg²⁺最佳使用浓度，Mg²⁺的终浓度一般不超过3mM。
- 针对部分困难模板，可以根据需要在0~20 μl的范围内调整 5× Enhancer。
- 建议在0.5~2U/50 μl范围内使用该聚合酶。由于该酶具有3'-5'外切酶活性，在使用时应最后加入反应体系，并立即进行反应。如需进行TA克隆的加A步骤，必须对PCR产物进行纯化。
- 大部分的模板预变性时间1 min，每个循环变性时间10 sec即可，部分困难模板可以适当提高预变性时间到3min，每个循环变性时间15 sec。
- 根据该酶反应体系的特性，为了获得更好的特异性，退火温度应尽量高于引物T_m值，在+3℃范围内即可。退火时间过长可能导致扩增产物呈弥散状。因此，推荐退火时间设置为10 sec。对于一些困难模板，退火时间可在10~30 sec之间调整。
- PCR反应在冰上配制后，直接置于预热至80℃的PCR仪上进行反应，可增强PCR反应的特异性，减少非特异性扩增。

4、长片段PCR指引

UltraHiPF® DNA Polymerase具有卓越的高特异性和长片段扩增能力，一般扩增超过12kb的片段，建议增加模板量（基因组建议增加到100ng/50μl），降低循环中的变性温度，提高引物的T_m值（不超过68℃），延伸温度调整为68℃。如果有必要，以0.2~0.5 mM为间隔向上摸索Mg²⁺最佳使用浓度。

94℃	3 min	} 30-35 cycles
94℃	10~15 sec	
T _m	30 sec	
68℃	30~60 sec/kb	
68℃	7 min	
4℃ hold		

5、高GC片段PCR指引

UltraHiPF® DNA Polymerase能够高特异性高产量的扩增常规聚合酶无法扩增的高GC含量片段，使用本说明书常规的PCR体系和程序已经能够完美的解决绝大部分的扩增实验。如果需要，可以考虑在10~20 μl的范围内调整 5× Enhancer。

6、低GC片段PCR指引

针对低GC含量的扩增片段，建议降低循环中的变性时间至2sec，引物的T_m值调整为65℃，延伸温度调整为65℃~68℃，并且采用“亚循环”来增加扩增的产量。如果需要，可以考虑在0~10 μl的范围内调整 5× Enhancer。

94℃	2~3 min	} 30-35 cycles
94℃	2 sec	
68℃ ^①	4 cycles  15~30 sec ^②	
63℃ ^①		
68℃	大于4kb根据需要 ^③	
68℃	7 min	
4℃ hold		

- ① 建议引物T_m值调整为65℃，那么4个亚循环的温度就可以采用68℃和63℃。如果T_m值是62℃，那么4个亚循环的温度就可以采用65℃和60℃。太低的T_m值不利于低GC片段的扩增。
- ② 亚循环的时间15~30 sec皆可，如果扩增长度低于2kb，那么15 sec即可。
- ③ 由于4个亚循环已经进行了低温扩增，因此低于4kb的片段，不需要增加额外的68℃延伸。如果大于4kb的片段，实际计算长度为“扩增长度-4kb”，按30~60 sec/kb来设定额外的68℃延伸的时间。

PC018_120324

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。



地址：广州高新技术产业开发区广州科学城揽月路 3 号 F 区 F801
电话：020-28069288 / 020-28069233

邮编：510663
网址：www.igenebio.com