

产品概述

AmpHifi HS DNA Polymerase I 是基于酶工程定向进化得到的高保真热稳定的 DNA 聚合酶, 具有极强的 3' 至 5' 外切酶活性, 在 PCR 过程中拥有极低的错配率。通过特异性抗体修饰, 在常温下无 5' 至 3' 聚合酶活性和 3' 至 5' 外切酶活性, 可进行高特异性的热启动 (Hot Start) PCR。缓冲液含有延伸辅助因子, 维持扩增过程的稳定高效, 可轻松实现常规基因克隆、长片段扩增等实验。

产品信息

组分	BR3P101-51 (100 U)	BR3P101-54 (500 U)	BR3P101-56 (1000 U)
5×HiFi Buffer I	1,000 μ L	1,000 μ L×5	1,000 μ L×10
AmpHifi HS DNA Polymerase I	100 μ L	500 μ L	500 μ L×2

保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。使用前请充分混匀, 并避免反复冻融。
2. 请使用高质量模板。
3. AmpHifi HS DNA Polymerase I 经单克隆抗体修饰, 反应体系可于常温配制, 但酶及 Buffer 在使用前请置于冰上, 使用后请及时置于-20 $^{\circ}$ C 保存。
4. 引物设计需满足一般原则, 如果 5' 端具有修饰性序列, 即与模板非配对序列, 则不参与 Tm 值计算。

使用方法

1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂在室温或冰面上解冻后混匀, 瞬时离心。按照表 1 配制反应液:

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μ L)	备注
模板	X	0.1 ng~500 ng
Primer1(10 μ M)	2	0.2~0.6 μ M
Primer2(10 μ M)	2	0.2~0.6 μ M
5×HiFi Buffer I	10	1×
AmpHifi HS DNA Polymerase I	1	不超过 2 U/ 50 μ L
ddH ₂ O	Up to 50	/

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 $^{\circ}$ C	/	/
预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min	1

变性	98°C	10 sec	25~35
退火	60°C ^a	15 sec	
延伸	72°C	1 min/ kb ^b	
完全延伸	72°C	5 min	1
保温	4°C	∞	1

注 a: 根据引物 Tm 值调整退火温度, 推荐设置为 60°C。

注 b: 扩增 10 kb 以下的片段时设置为 1 min/kb, 扩增 10~20 kb 的片段时, 延伸总时长设置为 10 min。