

AccuProof® HiFi DNA Polymerase

货号：A201

保存：-20°C保存两年

浓度：2 U/μl

货号	规格
A201-01	100 μl
A201-02	250 μl

【产品概述】

AccuProof® HiFi DNA Polymerase是一种经过基因改造的高保真DNA聚合酶，可以用于快速PCR扩增，扩增速度可达4 kb/min，克服普通高保真酶扩增效率差、产量低和扩增速度慢等缺陷，极大地缩短了反应时间。由于该酶具有极强的3'→5'外切酶活性，与普通高保真酶相比，保真性更高，是普通Taq DNA Polymerase的100倍以上。

- 扩增产物为平端，可直接用于无缝克隆实验
- 优化的缓冲液，可用于低丰度模板、复杂模板或高GC模板的扩增
- 基因组DNA片段的扩增（≤15 kb）
- Plasmid DNA片段的扩增（≤15 kb）
- 热启动，高特异性

【适用范围】

- 超高保真PCR快速扩增，平端克隆，无缝克隆实验，基因定点突变
- 低丰度模板、复杂模板或高GC模板的扩增
- 长片段扩增

【产品组成】

Component	A201-01	A201-02
AccuProof HiFi DNA Polymerase	200 U (100 μl)	500 U (250 μl)
5× HiFi Fidelity Buffer	1.2 ml	2×1.5 ml
5× HiFi GC Buffer	1.2 ml	2×1.5 ml
5× PCR Enhancer	1.2 ml	2×1.5 ml
50 mM MgCl ₂	1 ml	1 ml
dNTP Mix (10 mM each)	100 μl	250 μl
6× DNA Loading Buffer	1 ml	2×1.5 ml

【推荐常规PCR体系（以50 μ l反应体系为例）】

Component	Volume	Final Concentration
PCR-grade Water	Up to 50 μ l	N/A
5 $\times$ HiFi Fidelity Buffer ^a	10 μ l	1 $\times$
5 $\times$ PCR Enhancer ^b	10 μ l	1 $\times$
10 mM dNTP Mix	1 μ l	0.2 mM
10 μ M Forward Primer	2.5 μ l	0.5 μ M
10 μ M Reverse Primer	2.5 μ l	0.5 μ M
Template ^c	As Required	As Required
AccuProof HiFi DNA Polymerase ^d	1 μ l	2 U
Total Volume	50 μ l	-

【推荐高GC模板PCR体系（以50 μ l反应体系为例）】

Component	Volume	Final Concentration
PCR-grade Water	Up to 50 μ l	N/A
5 $\times$ HiFi GC Buffer ^a	10 μ l	1 $\times$
10 mM dNTP Mix	1 μ l	0.2 mM
10 μ M Forward Primer	2.5 μ l	0.5 μ M
10 μ M Reverse Primer	2.5 μ l	0.5 μ M
Template ^c	As Required	As Required
AccuProof HiFi DNA Polymerase ^d	1 μ l	2 U
Total Volume	50 μ l	-

- a. 5 $\times$ HiFi Buffer中已含有 Mg^{2+} ，终浓度为2 mM。
- b. 5 $\times$ PCR Enhancer用于优化复杂模板、低丰度模板或长片段模板的扩增，对AccuProof HiFi DNA Polymerase扩增能力也有显著增强作用。储存液浓度为5 $\times$ ，推荐工作浓度为1 $\times$ ，也可根据不同模板，工作浓度在0.5 $\times$ - 2 $\times$ 之间优化。
- c. 不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为50 μ l体系推荐的模板用量：

模板种类	模板起始量
基因组 DNA	10 - 400 ng
质粒 DNA	10 pg - 5 ng
病毒 DNA	10 pg - 10 ng
cDNA	1 - 5 μ l

- d. 建议最后一步加AccuProof HiFi DNA Polymerase到反应体系中。

【PCR条件】

Step	Temperature	Duration	Cycles
Initial Denaturation	98°C	30 sec	1
Denaturation	98°C	10 sec	25-35
Annealing	55-65°C	30 sec	
Extension	72°C	15-30 sec/kb	
Final Extension	72°C	5 min	1

【常见问题与解决方案】

无产物或产物量少

- 重复实验避免加样错误
- 优化引物设计
- 设置退火温度梯度，优化合适的退火温度
- 建议使用高质量dNTPs，不能使用含有dUTP的dNTPs
- 使用高纯度模板并适当增加模板用量
- 适当增加延伸时间
- 增加循环数至35 - 40个循环
- 适当调整高保真酶的使用量
- 增加Mg²⁺ 浓度至3 - 4 mM
- 使用HiFi GC Buffer进行扩增

有非特异性扩增产物或弥散条带

- 设置退火温度梯度，优化合适的退火温度
- 降低引物浓度至终浓度为0.2 μM
- 优化引物设计
- 适当减少延伸时间
- 减少扩增循环数至25 - 30个循环
- 使用高纯度模板并适当减少模板用量
- 降低酶浓度
- 使用HiFi GC Buffer进行扩增



- 蓉为基因/Exongen Biotech Co., Ltd
- 咨询热线/400-0800-717
- 技术支持/support@exongen.com

- 网址/www.exongen.com
- 销售/sales@exongen.com
- 售后/service@exongen.com