

ApexHF HS DNA聚合酶-FS

ApexHF HS DNA Polymerase FS

Code No. AG12201

包装量: 50 rxns / 50 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

ApexHFHS DNA Polymerase FS是一种高保真DNA聚合酶，具有高扩增效率、高灵敏度、高特异性、高退火效率及延伸速度快等特点。本制品中的PCR反应体系经过了优化，添加了独特的延伸因子，提高了退火效率与延伸速度，从而缩短了延伸时间，大大减少了PCR反应的时间，可进行快速的PCR反应。此外，本制品中还添加了在常温状态下能够抑制 DNA polymerase 活性的单克隆抗体，可以进行Hot Start PCR，有效抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

运输温度: 干冰运输或-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

活性定义

在 74 $^{\circ}$ C、30 分钟内，以活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，将10 nmol 脱氧核苷酸摄入到酸不溶物质所需的酶活性定义为1个活性单位 (U)。

产品组成

ApexHFHS DNA Polymerase FS (1 U / μ l)	50 μ l
5X ApexHF FS Buffer (Mg ²⁺ plus) *	500 μ l
dNTP Mix (10 mM each)	50 μ l

*: 5X ApexHF FS Buffer (Mg²⁺ plus) 中的 Mg²⁺ 浓度为 5 mM。

实验操作

反应体系 (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
ApexHFHS DNA Polymerase FS (1 U / μ l) *1	1 U	1 μ l
5X ApexHF FS Buffer (Mg ²⁺ plus)	1X	10 μ l
dNTP Mix (10 mM each)	0.2 mM	1 μ l
Template	$\leq$ 200 ng*2	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M*3	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M*3	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l



- *1: *ApexHF* HS DNA Polymerase FS 使用前先离心，将所有的酶液收集至离心管底部，然后再进行使用，减少损失；酶保存液中甘油浓度较高，使用时应轻柔混匀，避免起泡，缓慢吸取。
- *2: 通常模板添加量不高于 200 ng (以 cDNA 为模板时，模板量相当于 Total RNA 的量)。若模板量高于 200 ng，扩增效果不好时，可尝试延长 PCR 反应延伸时间，在 10 ~ 60 sec / kb 内进行调整。
- *3: 引物通常使用终浓度为 0.2 μM，可根据实验结果在 0.1 ~ 0.4 μM 范围内调整。

反应条件 (以三步法 PCR 扩增为例^{*5})

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	30 sec ^{*1}	1
变性	98°C	10 sec ^{*2}	} 25~35
退火	55°C	5 or 15 sec ^{*3}	
延伸	72°C	5 sec / kb ^{*4}	

- *1: 对于普通模板，可省略预变性步骤；对于复杂模板，建议将预变性设置为 94°C 30 sec~1 min。
- *2: 变性条件的设定可根据设备进行调整，一般 94°C 10 ~ 15 sec，98°C 5 ~ 10 sec。
- *3: 退火时间一般推荐 5 sec 或 15 sec，过长可能会导致 smear 带产生。T_m 值高于 55°C 时，退火时间可设为 5 sec；T_m 值低于 55°C 时，退火时间可设为 15 sec (可在 5 sec ~ 15 sec 之间调整)。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

- *4: 延伸速度：一般延伸速度设置为 5 sec / kb，可获得良好的扩增结果；若片段过长、模板复杂或模板量过多导致的扩增效果不好，可尝试将延伸时间延长至 10 ~ 60 sec / kb。
- *5: 当引物 T_m 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好，可尝试两步法 PCR 扩增 (两步法 PCR 反应程序可参考附录)。

➤ 结果检测

反应结束后，取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

➤ 附录

两步法 PCR 反应程序：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	30 sec	1
变性	98°C	10 sec	} 25 ~ 35
延伸	68°C	5 sec / kb	