



## ABP HiFi DNA Polymerase

货号: D018-01, D018-02

表 1. 试剂盒组分和储存条件

材料	体积	储存条件	有效期
<b>ABP HiFi DNA Polymerase (货号 D018-01, 100U)</b>			按照推荐的储存条件保存有效期为1年, 请注意避免反复冻融。
ABP HiFi DNA Polymerase (2.5 U/μl)	40 μL	-20 °C, 避免反复冻融	
5 x HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	1.25 mL		
50 mM MgCl <sub>2</sub>	1 mL		
<b>ABP HiFi DNA Polymerase (货号 D018-02, 500U)</b>			
ABP HiFi DNA Polymerase (2.5 U/μl)	200 μL	-20 °C, 避免反复冻融	
5 x HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	1.25 mL x 5		
50 mM MgCl <sub>2</sub>	1 mL		

### 产品介绍

ABP HiFi DNA Polymerase是一种基于Pfu DNA Polymerase改造而成的新一代超保真DNA聚合酶, 具有极高的扩增效率和广泛的模板适应性, 几乎适用于所有PCR反应。经过对Pfu DNA Polymerase的基因工程改造, ABP HiFi DNA Polymerase的行进性得到了大幅度提升, 即使是非常复杂的模板, 也能准确快速地完成反应。其错配率是普通Taq酶的1/100, 是Pfu酶的1/10, 并且扩增速度可以达到15-30 sec/kb。高保真性以及卓越的扩增效率使得ABP HiFi DNA Polymerase成为高保真PCR反应的优选用酶。ABP HiFi DNA Polymerase具有5'→3'聚合酶活性和3'→5'外切酶活性, 扩增产物为平端, 适用于无缝克隆试剂盒的片段扩增及二代测序文库的扩增。

### 单位定义

用活化的大马哈鱼精子DNA作为模板, 在74°C 30min内, 摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位(U)。

### 质量控制

大肠杆菌残留DNA检测: 10U本酶中残留的核酸经*E.coli* gDNA特异性引物进行SYBR Green qPCR检测, *E.coli*基因组残留低于10拷贝。

核酸内切酶残留检测: 10U本酶和200ng Lambda DNA 在37°C下孵育4h, DNA的电泳谱带不发生变化。

功能检测: 50μl PCR体系中加入1U本酶, 以10ng Lambda DNA为模板, 扩增30个循环后取1/10的PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳, EB染色后可见单一条带。

## 实验操作程序

- 按下列组分配制 PCR 反应液，所有操作请在冰上进行，各组分解冻后充分摇匀，用完后请及时放回-20℃保存。

试剂	50 µl 体系（推荐）	终浓度
5 × HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	10 µl	1×
dNTP Mix (10 mM each)	1 µl	200 µM
PCR Forward Primer (10 µM)	2.5 µl	500 nM
PCR Reverse Primer (10 µM)	2.5 µl	500 nM
50 mM MgCl <sub>2</sub>	optional	as required <sup>a</sup>
DMSO	optional	as required <sup>b</sup>
DNA template	可变	as required <sup>c</sup>
ABP HiFi DNA Polymerase	0.5 µl	
ddH <sub>2</sub> O	补水至 50 µl	

**Note:** a. 对于大多数反应，Mg<sup>2+</sup>最佳终浓度为1.5-2 mM。体系中已含有终浓度为1.5 mM Mg<sup>2+</sup>。如有需要，可用试剂盒中提供的50mM MgCl<sub>2</sub>，以0.2-0.5 mM 为间隔向上摸索Mg<sup>2+</sup>最佳使用浓度。

b. DMSO 的量可以1%的浓度递增，调整范围为0-8%。

c. 50 ul反应体系的DNA模板用量建议如下：人基因组DNA: 5ng - 200 ng; 大肠杆菌基因组DNA: 100 pg -100 ng; λDNA: 10 pg - 10 ng; 质粒或病毒DNA: 10 pg - 10 ng.

- PCR 反应条件设置：

Step	Temperature	Time	Cycle
Initial Denaturing	94-96°C	1-3 min	
Denaturing	94-96°C	10-20 sec	} 25-35
Annealing	T <sub>m</sub> ±3°C	10-30 sec	
Extension	72°C	15-30 sec/kb	
Final Extension	72°C	5-10 min	
Hold	4°C		

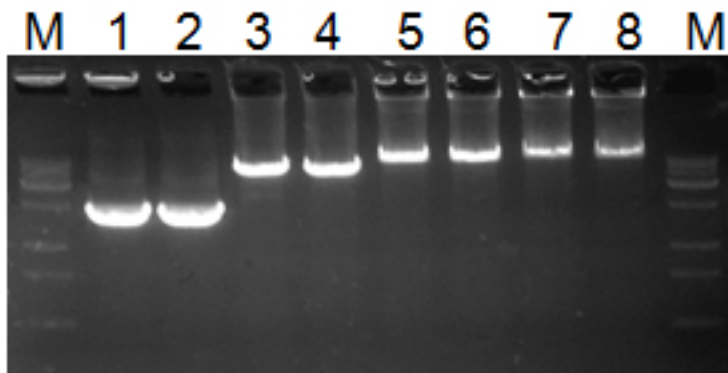
## 应用案例

【以 λ DNA为模板扩增3, 8, 15, 20 kb的DNA片段】

- 按上述组分配制 PCR 反应液
- 按照上述反应条件设置 PCR 反应



3. PCR 扩增结果。



M: DNA Marker

1,2: 3 kb PCR产物

3,4: 8 kb PCR产物

5,6: 15 kb PCR产物

7,8: 20 kb PCR产物