



## HotStart HiFi DNA Polymerase

货号: D018-1, D018-2

表 1. 试剂盒组分和储存条件

材料	体积	储存条件	有效期
HotStart HiFi DNA Polymerase (货号 D018-1, 100U)			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。
HotStart HiFi DNA Polymerase (2.5 U/μl)	40 μL	-20 °C，避免反复冻融	
5× HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	1.25 mL		
50 mM MgCl <sub>2</sub>	1 mL		
HotStart HiFi DNA Polymerase (货号 D018-2, 500U)			
HotStart HiFi DNA Polymerase (2.5 U/μl)	200 μL	-20 °C，避免反复冻融	
5× HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	1.25 mL × 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 $\mu$ l 体系（推荐）	终浓度
5× HiFi Buffer (with 7.5 mM MgCl <sub>2</sub> )	10 $\mu$ l	1×
dNTP Mix (10 mM each)	1 $\mu$ l	200 $\mu$ M
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	2.5 $\mu$ l	500 nM
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	2.5 $\mu$ l	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 $\mu$ l	
ddH <sub>2</sub> O	补水至 50 $\mu$ l	

**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  $\mu$ l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;  $\lambda$ DNA: 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		