

2X Hyperfusion plus master mix

产品描述

我们的产品 2X Hyperfusion plus master mix 能够为大部分 PCR 应用同时提供高保真性, 强大的扩增能力和更快的延伸速度。Hyperfusion plus DNA 聚合酶由 Pyrococcus 样校正聚合酶与 DNA 结合结构域融合形成。其独特的结构, 一种新型 Pyrococcus 样酶与具有增强合成能力的结构域融合, 提高了保真度和延伸速度。高保真度使得 hyperfusion plus DNA 聚合酶成为分子克隆或其他后续应用的较优选择。Hyperfusion plus DNA 聚合酶是具有最高的保真度的 DNA 聚合酶中的一个, 其错误率比 Taq DNA 聚合酶低 50 倍, 比 Pyrococcus Furious DNA 聚合酶低 6 倍。

Hyperfusion plus DNA 聚合酶具有 5' → 3' 聚合酶活性和 3' → 5' 外切酶活性。它会在扩增产物两端产生平端, 而没有 A 突出(A 突出通常出现在用 Taq 聚合酶扩增的产物中)。在实验中我们的 Hyperfusion plus 聚合酶能够扩增长达 20.1 kb 的基因组片段。在 PCR 反应中, Hyperfusion plus DNA 聚合酶的延伸速率约为 15-30 sec/kb (取决于基因的复杂性)。

2X Hyperfusion plus master mix 是一种即用型 2× 预混液, 其中包含聚合酶、dNTP, 和已经优化的缓冲系统。

组分和储存条件

Components	K1119-1 mL	K1119-5x1 mL	K1119-20x1 mL	K1119-50x1 mL	K1119-100x1 mL
2X Hyperfusion plus master mix	1 mL	5 mL	20 mL	50 mL	100 mL
Store the components at -20°C for 12-24 months.					

实验操作

1. 在冰上进行实验操作

我们建议将所有反应组分放在冰上。打开产品后确认全部解冻, 以确保均一性。

由于该酶具有 3' → 5' 核酸外切酶活性, 在缺乏 dNTP 的情况下也许可能降解引物, 因此 2X Hyperfusion plus master mix 应最后添加到 PCR 混合物中。

由于 Hyperfusion plus DNA 聚合酶的性质, 请注意使用 Hyperfusion plus DNA 聚合酶的实验操作指南, 可能与其他聚合酶的指南不同。

COMPONENT	20 μ L REACTION	50 μ L REACTION	FINAL CONCENTRATION
ddH ₂ O	add to 20 μ L	add to 50 μ L	
10 μ M Forward Primer	0.8 μ L	2 μ L	0.4 μ M
10 μ M Reverse Primer	0.8 μ L	2 μ L	0.4 μ M
Template	variable	variable	< 250 ng
2X Hyperfusion plus master mix	10 μ L	25 μ L	

- A. 推荐的最终引物浓度为 0.4 μ M，但可以在 0.2-1.0 μ M 范围内变化，您可以调整浓度。一般推荐寡核苷酸引物长度在 20-40 bp 之间，理想的 GC 含量为 40-60%。
- B. 使用高质量纯化的 DNA 模板可以大大提高 PCR 反应的成功率。对于低复杂度 DNA（例如质粒，病毒， λ 或 BAC DNA），DNA 模板量可以在每 50 μ L 反应体积 1pg - 10ng 之间。对于高复杂度的基因组 DNA，每 50 μ L 反应体积 DNA 模板量应为 50 - 250 ng。如果从 cDNA 合成反应中获得模板 DNA，则模板的体积不应超过最终 PCR 反应体积的 10%。

2. 轻柔的混匀反应体系，并在离心机中离心。

实验者应迅速混合并离心 PCR 管，并将反应体系转移至预热至变性温度（98°C）的 PCR 仪。如果 PCR 仪没有热盖，请使用矿物油覆盖样品。

3. PCR 循环条件

	Temperature	Time	Cycles
Initial denaturation	98°C	30 sec-1 min	1
Denaturation	98°C	10 sec	variable
Annealing	55-58°C	15-30 sec	
Extension	72°C	15-30 sec per kb	
Final extension	72°C	2 min	1
Hold	4°C	$+\infty$	1

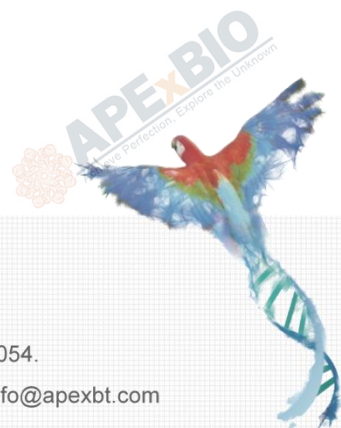
- A. 对于 ≤ 10 kb 模板，我们建议在 98°C 下进行 30 sec 的预变性。对于 ≥ 10 kb 的模板，我们建议在 98°C 下进行 1 min 的预变性。
- B. Hyperfusion plus DNA 聚合酶的最佳退火温度可能与基于 Taq 的聚合酶明显不同。Hyperfusion plus DNA 聚合酶具有稳定引物-模板杂交的能力。通常建议在 55-58°C 下退火 15-30 秒。如果在该温度下没有获得理想的产物或产量，请使用温度梯度为每种模板-引物对组合找到最佳退火温度。
- C. 延伸时间取决于扩增子的长度和复杂性。对于低复杂度的 DNA（例如质粒，病毒， λ 或 BAC DNA），每 1kb 使用 15 秒的延伸时间。对于高复杂度的基因组 DNA，建议每 1 kb 30 秒。对于一些 cDNA 模板，延伸时间可以增加至每 1kb 40 秒，以获得最佳结果。（对于大部分模板，可以使用每 1 kb 20 秒。）

4. 电泳

如果需要对 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳，我们的产品 SYBR Safe DNA Gel Stain（Cat: A8743）或者 Hyper Gel Red（Cat: A8746）可供您选择。

■ 注意事项

1. Hyperfusion plus 聚合酶退火温度不同于许多常见的 DNA 聚合酶（如 Taq DNA 聚合酶）。有关于酶的退火温度的设置，我们推荐 55-58°C。如果在该温度下，您无法获得较为理想的实验结果，可以尝试设置梯度退火温度，以优化实验条件。
2. 建议使用 15-30 sec / kb 的扩展速度，但不要超过 1 分钟/kb。
3. Hyperfusion plus DNA 聚合酶产生平末端 DNA 产物。
4. Hyperfusion plus DNA 聚合酶的聚合能力较强，实验者在 PCR 的整个实验过程中请在冰上操作，否则室温下酶具有活性，有可能将引物聚合形成引物二聚体，引物消耗后，PCR 效率将会降低。
5. 使用 Hyperfusion plus DNA 聚合酶产生的 PCR 产物具有平末端。如果下一步是克隆，那么推荐使用平端克隆。如果您期望选择 T/A 克隆，那么 DNA 应该在 A 突出加入前纯化（任何剩余的 Hyperfusion plus DNA 聚合酶将降解 A 突出，再次产生平端）。可以用 Taq DNA 聚合酶或 Klenow exo-酶添加无模板的 A 突出。实验者可以在 10 μ L 反应混合物中用 1x Taq 缓冲液, 2.5mM MgCl₂, 0.2 mM dATP 和 1 U Taq DNA 聚合酶在 72°C 孵育 30 分钟。
6. 本产品仅限科研用途使用。



APEX BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com