

SuperHiFi DNA Polymerase

货号: T2212

存储条件: -20°C, 有效期 2 年

产品组分

组分	规格
SuperHiFi DNA Polymerase	100ul
5×SuperHiFi Buffer	1ml
PCR Enhancer	1ml

产品说明

SuperHiFi DNA Polymerase 为定向进化得到的高保真 DNA 聚合酶, 其保真度是普通 Taq 酶的 70 倍, 扩增速度是 Pfu 的 5 倍。优化的缓冲液中添加了独特的延伸因子和特异性促进因子, 使其在长片段扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。使用λDNA、质粒等简单模板时, SuperHiFi DNA Polymerase 可以轻松扩增长达 20 kb 的片段; 而使用基因组 DNA 等复杂模板时, SuperHiFi DNA Polymerase 能有效扩增长达 12 kb 的片段。此外, SuperHiFi DNA Polymerase 对 PCR 抑制剂具有良好的耐受能力, 对粗提样本也能进行很好的扩增。

适用范围

本产品适用于以基因组 DNA、cDNA、质粒以及粗品为模板的 PCR 反应。

使用方式

1、反应体系配置

试剂	使用量
SuperHiFi DNA Polymerase	1ul
5×SuperHiFi Buffer	10ul
PCR Enhancer	20ul ^a
dNTPs (10mM)	1ul
上游引物 (10uM)	1ul
下游引物 (10uM)	1ul
模板	Xul
ddH2O	Up to 50ul

a: 当扩增片段 GC 含量>60%且优化条件也无法正常扩增时, 推荐使用 PCR Enhancer 来优化 PCR 反应。程序推荐: Touchdown PCR (降落 PCR) 程序。

2、推荐模板用量及反应条件

2.1 模板用量

模板种类	推荐用量
基因组 DNA	10~200ng
质粒或病毒 DNA	10pg~50ng
cDNA	1~5 μl(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)
粗品	1~5 μl(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

2.2 反应程序

(1) 三步法:

步骤	温度	时间	循环
预变性 ^a	95°C	3~5min	30~35cycles
变性	95°C	10s	
退火 ^b	55~72°C	15s	
延伸 ^c	72°C	30s/kb	
终延伸	72°C	5min	

a. 对于普通模板, 预变性可缩短至 30~60s; 对于复杂模板, 例如高 GC 序列, 推荐延长预变性时间到 3~5min 以充分变性;

b. 根据引物 Tm 值设置退火温度。如引物 Tm 值≥72°C, 可删除退火步骤, 直接进行后续的延伸步骤(两步法 PCR)。如果需要, 可以建立一个温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度。此外, 退火温度直接决定扩增特异性。如发现扩增特异性差, 可适当提高退火温度;

c. 对于大多数模板, 30s/kb 即可有效扩增; 对于一些复杂模板, 可延长延伸时间至 30~60s/kb。

(2) 两步法:

步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	3~5min	30~35cycles
变性	95°C	10s	
退火&延伸	72°C	30s/kb	
终延伸	72°C	5min	

通常情况下使用两步法和三步法进行 PCR 扩增, 性能无显著差异, 可以根据操作习惯自行选择。但对于一些复杂模板(如长片段, Tm 分布不均匀, 特殊结构模板), 可以尝试两步法或者 Touchdown PCR (降落 PCR) 法。此外, 使用质粒为模板进行点突变时, 也建议使用两步法。

(3) Touchdown PCR (降落 PCR) 法:





步骤	温度	时间	循环
预变性	95°C	3~5min	
变性	95°C	10s	30~35cycles
退火	68°C (-0.2°C/cycle)	15s	
延伸	72°C	30s/kb	
终延伸	72°C	5min	

该程序仅供参考，Touchdown PCR（降落 PCR）有多种程序可灵活调整，请根据实验需求与习惯自行决定是否采用。

注意事项

1. 请不要使用含尿嘧啶的引物和模板。
2. SuperHiFi DNA Polymerase 具有较强的校正活性，产生的扩增产物是平末端，如果用于下一步克隆实验，建议使用平末端克隆。如果扩增产物需要用于 TA 克隆，加 A 之前须先进行 DNA 纯化。
3. 为了提高扩增成功率和产量，请使用高质量的模板。

