

# ApexHF HS DNA 聚合酶-FL

## ApexHFHS DNA Polymerase FL

Code No. AG12203

<b>包装量:</b>	100 rxns / 50 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-20 $^{\circ}$ C

### 产品概述

ApexHFHS DNA Polymerase FL 是本公司开发的非常适合长片段扩增的高保真 DNA 聚合酶，具有保真性高、扩增效率高、退火效率高及延伸速度快等特点，以 Human gDNA 为模板，可扩增长达 30 kb 的 DNA 片段。本产品中的 PCR 反应体系经过了优化，添加了独特的延伸因子，提高了退火效率与加快了延伸速度，从而缩短了延伸时间，大大减少了 PCR 反应的时间。本产品也适用于扩增高 GC 含量的模板。此外，本产品中还添加了在常温状态下能够抑制 ApexHFHS DNA Polymerase FL 活性的单克隆抗体，可以进行 Hot Start PCR，有效的抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

### 保存及运输

保存温度：-20 $^{\circ}$ C 保存

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量定义为 1 个活性单位 (U)。

### 产品组成

ApexHFHS DNA Polymerase FL (1 U/ $\mu$ l)	100 $\mu$ l
5X ApexHF FL Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus) *	1 ml
dNTP Mix (10 mM each)	100 $\mu$ l

\*: 5X ApexHF FL Buffer (Mg<sup>2+</sup> plus) 中的 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 5 mM。

### 实验操作

反应体系 (50  $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
ApexHFHS DNA Polymerase FL (1 U/ $\mu$ l) **	1 U	1 $\mu$ l
5X ApexHF FL Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus)	1X	10 $\mu$ l
dNTP Mix (10 mM each)	0.2 mM	1 $\mu$ l
Template	$\leq$ 500 ng <sup>2</sup>	-
Primer F (10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>3</sup>	1 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.2 $\mu$ M <sup>3</sup>	1 $\mu$ l
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

- \*1: *ApexHFHS* DNA Polymerase FL 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: 通常模板添加量少于 500 ng, 可获得良好的扩增效果。若以 cDNA 为模板时, 建议少于 250 ng (模板量相当于 Total RNA 的量)。
- \*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<sup>\*5</sup>)

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min <sup>*1</sup>	} 25~35
变性	98°C	10 sec <sup>*2</sup>	
退火	55°C or 60°C <sup>*3</sup>	15 sec	
延伸	68°C	30 sec/ kb <sup>*4</sup>	

- \*1: 对于普通模板, 可省略预变性步骤; 对于复杂模板, 如高 GC 或者长片段, 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: Tm 值高于 55°C 时, 退火温度设置为 60°C; Tm 值低于 55°C 时, 退火温度设置为 55°C。

- \*4: 延伸速度一般设置为 30 sec/ kb, 可根据实际情况在 5 sec~1 min/ kb 内进行调整。片段 ≤ 10 kb, 可在 5~30 sec/ kb 调整; 片段 ≥ 10 kb, 可在 30 sec~1 min/ kb 调整。两步法 PCR 和三步法 PCR, 延伸温度都可以设置为 68°C。
- \*5: 当三步法 PCR 扩增结果不好, 也可尝试两步法 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	1 min	} 25~35
变性	98°C	10 sec	
延伸	68°C	30 sec/ kb	

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.