

ApexHF HS DNA 聚合酶-CL

ApexHFHS DNA Polymerase CL

Code No. AG12204

包装量:	50 rxns / 50 μ l
保存温度:	-20 $^{\circ}$ C

产品概述

ApexHFHS DNA Polymerase CL 是一款具有高特异性及优良扩增性的高保真 DNA 聚合酶。本产品对简单或复杂模板、短片段或长片段 PCR 扩增都具有好的适应性，特别适用于长片段 PCR 扩增，同时，对于高 GC 含量、高 AT 含量及低起始量的模板都能进行有效的扩增。本产品中还添加了在常温状态下能够抑制 ApexHFHS DNA Polymerase CL 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。本产品中的反应体系经过了优化，对粗提样本也能进行很好的扩增。

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 1 个活性单位 (U)。

产品组成

ApexHFHS DNA Polymerase CL (1 U/ μ l)	50 μ l
2X ApexHF CL Buffer (Mg ²⁺ and dNTP plus) *	1.25 ml

*: 2X ApexHF CL Buffer (Mg²⁺ and dNTP plus) 中的 Mg²⁺ 浓度为 2 mM, dNTP 浓度各 400 μ M。

实验操作

反应体系 (50 μ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
ApexHFHS DNA Polymerase CL (1 U/ μ l) ¹⁾	1 U	1 μ l
2X ApexHF CL Buffer (Mg ²⁺ and dNTP plus)	1X	25 μ l
Template	\leq 500 ng ²⁾	-
Primer F (10 μ M)	0.2 μ M ³⁾	1 μ l
Primer R (10 μ M)	0.2 μ M ³⁾	1 μ l
RNase free water	-	Up to 50 μ l

- *1: *ApexHF* HS DNA Polymerase CL 使用前先离心，将所有的酶液收集至离心管底部，然后再行使用，减少损失；使用时应轻轻混匀，避免起泡，酶保存液中甘油浓度较高，应缓慢吸取。
- *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 0.1~0.4 μM 范围内调整。

普通模板反应条件（以三步法 PCR 扩增为例⁷）

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min ¹	1
变性	98°C	10 sec ²	} 30-35
退火	55°C or 60°C ³	15 sec	
延伸	68°C ⁵	30 sec/ kb ⁴	

复杂模板反应条件⁶

步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	5 min ¹	1
变性	98°C	10 sec ²	} 30-35
退火	55°C or 60°C ³	15 sec	
延伸	68°C ⁵	1 min/ kb ⁴	

- *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 1 min ~ 5 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: T_m 值高于 55°C 时，退火温度设置为 60°C；T_m 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 10 sec ~ 1 min / kb 内进行调整。片段小于 10 kb，可在 10 sec ~ 30 sec / kb 内进行调整，片段大于 10 kb，可在 30 sec ~ 1 min / kb 内进行调整。若是粗提样品，建议将延伸速度设置为 1 min / kb。
- *5: 两步法 PCR 与三步法 PCR，延伸温度都可以设置为 68°C。
- *6: 扩增复杂模板或粗提样本时，推荐使用此反应程序。
- *7: 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 反应程序见附录）。

➤ 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	} 30-35
变性	98°C	10 sec	
延伸	68°C	30 sec/ kb	

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

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.