

Gloria U 2X HS Master Mix

目录: RK20722

规格: 1 mL / 5 mL (50 µL/RXN)

产品组成:

Gloria U 2X HS Master Mix	RM 20393
---------------------------	----------

产品说明

Gloria U 热启动 DNA 聚合酶是通过分子改造获得的 DNA 聚合酶, 可有效扩增含尿嘧啶的模板。Gloria U 聚合酶尿嘧啶结合能力失活, 可以高效扩增亚硫酸氢盐处理过 DNA, 而且该酶显示出了与 Gloria Nova 热启动 DNA 聚合酶相同的高产量、低 GC 偏好性。Gloria U 热启动高保真 DNA 聚合酶具有 5'-3' 聚合酶和 3'-5' 外切核酸酶 (校正) 活性, 但没有 5'-3' 外切核酸酶活性。Gloria U 2X HS Master Mix 包含 Gloria U DNA polymerase, dNTP, 5X Gloria U Reaction Buffer 等组分, 只需加入模板和引物即可。

产品组分

组分	规格	规格
Gloria U HS 2X Master Mix	1 mL	5 X 1 mL

保存条件: -20°C

注意事项

- 每 50 µL 反应体积使用 25 µL 的 Gloria U HS 2X Master Mix, 推荐将所有的反应组分在冰上配制, 然后快速将反应体系转移到预热到 98 °C 的 PCR 仪中。
- Gloria U HS 2X Master Mix 中每个 dNTP 的浓度为 200 µM。dUTP 的添加量最高可达 200 µM。
- 所有组分在使用前应混匀并瞬时离心。将其他反应组分混合后, 最后加入 Gloria U HS 2X Master Mix, 防止其 3'-5' 核酸外切酶活性对引物的降解。

操作方法

在打开前, 仔细混匀并离心所有试管, 以确保均匀。

推荐冰上配制反应体系, 将该体系快速转移到 98°C 预热的 PCR 中。请参考以下反应。

以 25 µL 和 50 µL 反应体系为例。

推荐 PCR 反应体系

组分	25 µL	50 µL	终浓度
Gloria U 2X HS Master Mix	12.5 µL	25 µL	1X
上游引物 (5 µM)	1 µL	2 µL	0.2 µM
下游引物 (5 µM)	1 µL	2 µL	0.2 µM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
Nuclease-Free Water	to 25 µL	to 50 µL	N/A

注意: 温和混匀反应体系, 如果必要可以通过短暂快速离心将试剂收集到管底。若用户使用无热盖的 PCR 仪, 可以在反应体系表面覆盖一层矿物油。

*, 注: 不同 DNA 模板最佳反应浓度不同, 可参考 PCR 基本原则。

推荐的 PCR 反应程序如下

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 °C	45 s	1
变性	98 °C	10 s	30
退火	55-65 °C	1 min	
延伸	72 °C	30-60 s/kb	
终延伸	72 °C	1-5 min	1
Hold	4-12 °C	∞	1

产品应用

1. 亚硫酸氢盐转化的 DNA 的扩增

亚硫酸氢钠处理将未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶, 而甲基化的胞嘧啶不会被转化。在随后的 PCR 扩增过程中, 胸腺嘧啶替换尿嘧啶, 使得可以通过测序将 DNA 甲基化精确到碱基对水平。Gloria U 2X HS Master Mix 聚合酶能够提供高产量的亚硫酸氢盐转化的 DNA, 并可进行稳定扩增。

2. 扩增受损的 DNA 样本

胞嘧啶脱氨作用会在一段较长的时间内自行发生, 温度升高时脱氨速度加快, 并导致 DNA 和游离核苷酸中尿嘧啶的累积。当其他校正酶无效时, Gloria U 2X HS Master Mix 聚合酶可以从含有尿嘧啶的受损 DNA 模板中进行高保真扩增。

3.采用 UDG 预防扩增子污染

Gloria U 2X HS Master Mix 聚合酶在扩增过程中很容易掺入 dUTP, 可达到 100%掺入率, 因此可与尿嘧啶-DNA-糖基化酶 (UDG)联合使用,以防止残留污染。需要在 PCR 中加入 dUTP, 以便在扩增前通过 UDG 的消化去除可能污染后续反应的扩增子。(注: 此 Mix 中含有的是 dNTP, 未加入 dUTP, 需要格外添加。)