

版本号: M16E18V1.1



Gloria Nova HS 2X

TEL: 400-999-6126

HF Master Mix

WEB: www.abclonal.com.cn

目录: RK20715

规格: 50 RXN / 200 RXN (50 µL/RXN)

浓度: 2X

产品组成:

Gloria Nova HS 2X HF Master Mix RM20384

产品说明

Gloria Nova HS DNA 聚合酶是一种全新的具有优异扩增性能的高保真 DNA 聚合酶。Gloria Nova HS DNA 聚合酶具有独特的结构, 融合了持续合成增强结构域, 提高了保真度和延伸速度, 是分子克隆的理想选择。Gloria Nova DNA Polymerase 添加了能够抑制酶活性的单克隆抗体, 可进行高特异性的热启动 PCR。Gloria Nova 是目前保真度最高的热稳定 DNA 聚合酶之一, 其保真度显著高于 *Taq* DNA 聚合酶和 *Pyrococcus furiosus* DNA 聚合酶。Gloria Nova HS DNA 聚合酶具有 5'-3' 持续合成活性和 3'-5' 核酸外切酶活性, 其扩增产物为平末端。本产品为 Gloria Nova HS 2X HF Master Mix 预混液, 其中包含 Gloria HiFi DNA 聚合酶、dNTPs、反应 Buffer、优化的 MgCl₂, 仅需在该预混液中加入 DNA 模板、引物和水即可进行扩增。该预混液适用于各种类型的模板, 对动植物基因组 DNA 和 cDNA 等均有很好的扩增效率。

保存温度: -20°C

热失活: 否

5'-3' 核酸外切酶活性: 无

3'-5' 核酸外切酶活性: 有

产物末端: 平末端

产品规格及组成:

组分	50 RXN	200 RXN
Gloria Nova HS 2X HF Master Mix	1.25 mL	1.25 mL*4

操作说明

标准操作

- 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已经预热到 98°C 的 PCR 仪中。
- 所有组分在使用前应混匀并瞬时离心。请将其他反应组分混合后, 再最后加入 Gloria Nova HS 2X HF Master Mix, 以防止其 3'-5' 核酸外切酶活性降解引物。
- 注意, Gloria Nova HS 2X HF Master Mix 的操作方法可能与其他聚合酶的标准方法不同。因此, 请使用下面推荐的反应条件以获得最佳扩增效果。

推荐的 PCR 反应

推荐的 PCR 反应体系(以 25 µL 和 50 µL 为例)			
组分	加入量 (25 µL 体系)	加入量 (50 µL 体系)	终浓度
Gloria Nova HS 2X HF Master Mix	12.5 µL	25 µL	1X
上游引物 (10 µM)	0.5 µL	1 µL	0.2 µM
下游引物 (10 µM)	0.5 µL	1 µL	0.2 µM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
ddH ₂ O	to 25 µL	to 50 µL	N/A

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

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	45 s	1
变性	98°C	10 s	
退火	55-65°C	20-30 s	25-35
延伸	72°C	10-30 s/kb	
终延伸	72°C	1-5 min	1
Hold	4-12°C	∞	1

PCR 基本原则

1. 模板

使用高质量纯化的 DNA 模板可以增加 PCR 的成功率。

推荐加入的 DNA 模板量 (50 μ L 反应体系)

DNA 类型	模板量*
植物、动物及人基因组 DNA	10 ng-300 ng
<i>E.coli</i> 、lambda 基因组	10 ng-100 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng

* 注: 如果 DNA 模板是从 cDNA 合成反应中获得的, 则添加的体积应小于总反应体积的 10%。若扩增长片段, 可适当增加模板投入量。

2. 引物

寡核苷酸引物长度通常在 20-40 nt 之间,理想的 GC 含量为 40-60%。可以使用软件 (例如 Primer 3) 设计和分析引物。PCR 反应体系中每条引物的终浓度可以在 0.2-1 μ M 范围内调整, 一般使用 0.4 μ M。

3. 变性

98°C 预变性 45 s 可使大多数纯化的 DNA 模板充分变性, 但对于复杂的模板, 可以将预变性时间延长到 3 min 以充分变性。在扩增循环中, 对大多数 DNA 模板推荐的变性条件是 98°C 5-10 s。

4. 退火

Gloria Nova HS DNA 聚合酶的退火温度高于其它大多数 DNA 聚合酶。通常, 对大于 20 nt 的引物, 按(较低引物 T_m+3)°C 进行退火 10-30 s; 对小于 20 nt 的引物, 则应采用与较低引物 T_m 值相当的退火温度。使用新的引物对进行扩增时, 最好通过温度梯度优化实验确定最佳退火温度。使用两步法进行扩增循环时, 需要将退火和延伸温度设置为同一温度。

5. 延伸

推荐延伸温度为 72°C, 延伸时间取决于扩增基因的长度和复杂程度。通常可以按 10-30 s/kb 的速度来计算延伸时间。对于复杂的扩增子, 建议按 1 min/kb 的延伸速度进行计算延伸时间。

6. 循环数

通常进行 25-35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。

7. PCR 产物

Gloria Nova HS DNA 聚合酶产生的 PCR 产物是平末端; 如果下一步需要进行克隆实验, 建议使用平末端克隆。如果需要行 T/A 克隆, 在加 A 前应先纯化 DNA, 因为 Gloria Nova HS DNA 聚合酶会将降解产生的 dA 突出。可以使用 *Taq* DNA 聚合酶 (ABclonal RK20600) 或 Klenow exo^- (ABclonal RK20526) 对纯化的 DNA 加 dA。