

产品说明

HiFi Taq DNA 聚合酶基于Barnes方法开发的高效率PCR酶。将具有强3' → 5' 核酸外切酶活性（proof-reading活性）的KOD DNA polymerase与Taq DNA polymerase以最佳比例混合，从而实现了卓越的PCR性能，并提高了保真性。**两种酶均经特殊改造，具有超强扩增能力和延伸速度，扩增片段的长度可达 5-6 kb，延伸速度为 1-2 kb/ min（72℃）。**该酶具有 5'→3'聚合酶活性，较弱的 5'→3'外切酶活性；优化的3'→5'外切酶活性。少量扩增产物具有 3'-dA 尾巴。

活性定义

以大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，在 72℃、30 min 内，将 10 nmol 脱氧核糖核苷酸掺入到酸不溶物中所需的酶量，定义为一个活性单位（U）。

浓度：5U/μl

保存条件：-20℃保存

特点

- **经特殊改造，扩增能力强 2kb/min 条件下可有效扩增 3-5kb 的 DNA 片段；**
- 热稳定性好：95℃下半衰期超过 40 min；
- 少量PCR 产物具有 3'-dA 尾巴，直接进行 T/A 克隆效率稍低；
- 模板 DNA 耐受范围广。

适用范围

- 常规 PCR 扩增；
- 菌落 PCR；
- Multiplex PCR；
- DNA 荧光标记。

产品包装规格及组成

Component	AE0109A/ AE0110A*	AE0109B/ AE0110B*	AE0109C/ AE0110C*	AE0109D/ AE0110D*
Taq DNA polymerase	250U	250U×5	1250U×4	2500U×5
10×HiFi Taq Buffer	0.5 ml×1	1.0 ml×3	5.0 ml×2	5.0 ml×5
2 mM dNTPs	-/0.5 ml×1	-/1.0 ml×3	-/5.0 ml×2	-/5.0 ml×5

*附带 2mM dNTP 混合物。

质量控制

相关测试表明无外源内切或外切脱氧核糖核酸酶污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

室温放置一周，扩增活性无明显改变；但强烈建议不要在室温下长期放置，用毕放回-20 度。

酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.5% Nonidet P40, 0.5% Tween 20, and 50% glycerol.

应用举例

注：以下反应举例为 50 µl 标准PCR 体系，仅供参考。实际PCR 条件应根据模板、引物、目的片段大小加以优化，确定最佳反应条件。

组份	体积/µl	终浓度
10×Taq Buffer	5	1×
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
引物 F (10 µM)	1.5	0.3 µM
引物R (10 µM)	1.5	0.3 µM
Template	Variable*	/
HiFi Taq (5U/µl)	0.5	2.5U
ddH ₂ O	Variable	/
总体积	50	/

*DNA template 可参照如下标准 (50 µl PCR 体系)：

- 人类基因组 DNA 0.1 µg-1 µg
- λDNA 0.5 ng-5 ng
- 质粒 DNA 0.01 ng-1 ng
- 大肠杆菌 DNA 10 ng-100 ng

PCR 反应条件

95℃	5 min	
95℃	15 sec	
55~72℃	20 sec	30 Cycles
72℃	1-2kb/min	
72℃	5 min	

注意事项

- HiFi Taq DNA 聚合酶虽然具有脱氧核苷酸转移酶活性，可以在 PCR 产物3'末端通常会加上1个多余的腺嘌呤，但含有的少量KOD聚合酶具有很强的3'-5'外切酶活性，因此PCR产物3'-A的比例较低。
- 碱基出错率是指在每个碱基合成过程中所掺入的错误核苷酸数目。HiFi Taq DNA 聚合酶的碱基错误率为 3×10^{-5} 。
- 建议在冰上配置 PCR 反应液后，再放入PCR 仪中进行扩增。这有利于提高扩增的特异性，减少非特异性扩增，得到良好的PCR 结果。
- 如进行 PCR 扩增后，除目的条带外，还伴随其他杂带，建议适当减少体系中的 HiFi Taq 酶用量，以增加PCR 扩增反应的特异性。
- 本公司 Buffer 经大量 PCR 反应实例优化而成，然而对某些PCR 反应存在一个最优的镁离子浓度。若需要优化镁离子浓度，请购买本公司不含镁离子的 buffer 和MgCl₂/MgSO₄。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。