

# M5 HiPer NGS High-Fidelity DNA Polymerase (NGS 超保真酶) 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer NGS High-Fidelity DNA Polymerase	100U	MF137-01
M5 HiPer NGS High-Fidelity DNA Polymerase	500U	MF137-05

## 【储存条件】

-20℃保存

## 【试剂盒组分】

Component	100 U	500 U
NGS High-Fidelity DNA Polymerase, 2 U/μl	50 μl	250 μl
5×NGS High-Fidelity HF Buffer	1.5 ml	4×1.8 ml
5×NGS High-Fidelity GC Buffer	1.5 ml	4×1.8 ml

## 【产品简介】

NGS High-Fidelity DNA Polymerase 是一种快速、高扩增效率的高保真 DNA 聚合酶，该聚合酶具有 5' -3' DNA 聚合酶活性和 3' -5' 外切酶活性。该酶经其他高保真酶改造而来，扩增能力强、扩增速度快(4-6 kb/min)，保真度高，克服了普通 Pfu 酶扩增能力差、产量低和扩增速度慢的缺陷，极大地缩短了反应时间。

本品可用于长片段扩增及其他各种复杂模板的扩增，扩增得到的 PCR 产物的 3' 端不带有“A”碱基，可直接克隆于平末端载体中，如需进行 T/A 克隆，需在 PCR 产物末端添加“A”后进行克隆。本产品具有延伸速度快、扩增效率高、保真性强的特点，适用于基因克隆、基因定点突变、SNP 等扩增实验。

## 【活性定义】

在 74℃，30 分钟内，将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

## 【质量控制】

经过多次柱纯化，SDS-PAGE 检测其纯度大于 98%；经检测无外源核酸酶活性，室温存放一个月，无明显活性改变。

**【操作步骤】**

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

**使用方法**
**1. PCR 反应体系**

试剂	50 $\mu$ l 反应体系	终浓度
5 $\times$ NGS High-Fidelity HF Buffer	10 $\mu$ l	1 $\times$
dNTP Mix, 10 mM each	1 $\mu$ l	200 $\mu$ M each
Forward Primer, 10 $\mu$ M	2.5 $\mu$ l	0.5 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	2.5 $\mu$ l	0.5 $\mu$ M
Template DNA	适量	<250 ng/50 $\mu$ l
NGS High-Fidelity DNA Polymerase	0.5 $\mu$ l	1 U/50 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O up to	50 $\mu$ l	

**注意：**

- 1) 本产品的 5 $\times$ NGS High-Fidelity HF Buffer 和 5 $\times$ NGS High-Fidelity GC Buffer 中含有 7.5 mM 镁离子；
- 2) 对于复杂模板或高 GC 含量的模板，建议使用 5 $\times$ NGS High-Fidelity GC Buffer。

**2. PCR 反应条件**

步骤	温度	时间
预变性	98 $^{\circ}$ C	30 s-3 min
以下 25-35 个循环		
变性	98 $^{\circ}$ C	5-10 s
退火	45-72 $^{\circ}$ C	10-30 s
延伸	72 $^{\circ}$ C	4-6 kb/min
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5-10 min

**注意：**

- 1) 变性：简单模板的预变性 98 $^{\circ}$ C，30 s-1 min，对于比较复杂的模板，预变性时间可延长至 3 min。
- 2) 退火：一般实验中退火温度比引物的溶解温度  $T_m$  低 3-5 $^{\circ}$ C，如无法得到理想的扩增效率时，应梯度改变退火温度，进行优化，发生非特异性反应时，适当提高退火温度。对于  $T_m$  高的引物可以使用两步法 PCR。
- 3) 延伸：延伸时间应根据所扩增片段长度和模板复杂程度设定，本产品 NGS High-Fidelity DNA Polymerase 扩增效率为 4-6 kb/min，对复杂性低的模板可达到 6 kb/min。
- 4) 循环次数：可根据扩增产物的下游应用设定循环数，如果循环次数太少，扩增量不足，循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重，所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。