

描述: G5U Plus High-Fidelity DNA Polymerase, 融合 Q5 和 Q5U 的性能于一体, 使其成为一酶多用的全能选手。该酶来源于高保真 DNA 聚合酶, 并加入了增强的延伸结构, 使其具有超保真性能 (与 Q5 同水平)、长片段扩增能力、高产量、dUTP 渗入能力、扩增含有尿嘧啶模板的能力。使用该酶可轻松扩增 8kb 的基因组 DNA、20kb 的 λDNA。该酶具有 4kb/min 以上的延伸速度。该酶具有 5'-3' 的聚合酶活性、强 3'-5' 的外切酶活性, 产物为平末端。

组分

| 名称 | 1 ml | 10 ml |
|--------------------------|-------|-----------|
| 2xHiFi Buffer-Mix | 1 ml | 1 ml x 10 |
| G5U Plus DNA Pol (2U/µl) | 20 µl | 200 µl |

(1) 储存: -20°C 可保存 2 年。

(2) 2xHiFi Buffer-Mix 包含: 反应缓冲盐、dNTP、Mg²⁺、溴酚蓝。

(3) PCR 反应性能: 以 λDNA 为模板, 扩增 20kb DNA 片段; 以人类基因组 DNA 为模板, 扩增 8kb DNA 片段。

使用方法

1. 按以下组分配制 PCR 反应液

| | |
|--------------------------|-------------|
| 2xHiFi Buffer-Mix | 10 µl |
| G5U Plus DNA Pol (2U/µl) | 0.2 µl |
| 上游引物 (10 µM) | 0.4 µl |
| 下游引物 (10 µM) | 0.4 µl |
| 模板 DNA | X µl |
| ddH ₂ O | Up to 20 µl |

2. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

| | | <1kb | 1-2kb | >2kb |
|----------|------|------|-------|--------|
| 预变性 | 95°C | 1min | 1min | 1min |
| 循环 1 | 95°C | 10s | 10s | 10s |
| 5 Cycle | 65°C | 30s | 45s | 30s/kb |
| 循环 2 | 95°C | 10s | 10s | 10s |
| 23 Cycle | 55°C | 10s | 10s | 10s |
| | 72°C | 30s | 45s | 30s/kb |
| 末延伸 | 72°C | 2min | 2min | 2min |

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 T_M 值 (50-70°C) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 28 (5+23), 如产物扩增亮度不足, 则增加循环 2 的次数到 25-28 个, 通常不宜超过 28。(2) 如果仍然不能获得良好的扩增结果, 则可以改变, 循环 2 中的退火温度为 50-65°C (上表中为 55°C)。

使用注意事项 (必读)

(1) 引物、模板、酶浓度使用参考表

| 在 1x 反应体系下 | 引物浓度 (nM) | 酶浓度 (U/µl) | 模板浓度 (ng/µl) |
|------------|-----------|------------|-----------------|
| <2kb | 200 | 0.02 | 基因组 (0.01-1) |
| | | | 简单模板 (0.01-0.1) |
| 2-4kb | 100 | 0.03 | 基因组 (0.05-2) |
| | | | 简单模板 (0.01-0.1) |
| >4kb | 100 | 0.04 | 基因组 (0.5-4) |
| | | | 简单模板 (0.05-0.1) |

(2) 扩增片段 GC 含量 >60% 时, 推荐添加 5xQ Solution (货号: A3002) 至 1x 浓度, 来提升高 GC 含量的扩增性能。