

## Hieff Canace<sup>®</sup> Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase (1 U/ $\mu$ L)

## Hieff Canace<sup>®</sup>耐 U+高保真 DNA 聚合酶 (1 U/ $\mu$ L)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff Canace <sup>®</sup> Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase (1 U/ $\mu$ L)	10145ES60	100 U
Hieff Canace <sup>®</sup> 耐 U+高保真 DNA 聚合酶(1 U/ $\mu$ L)	10145ES76	500 U

### 产品描述

Hieff Canace<sup>®</sup> Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase 是一种基于 Pfu DNA Polymerase 改造而成的新一代高保真 DNA 聚合酶，和 Pfu DNA Polymerase 相比，Hieff Canace<sup>®</sup> Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase 的性能得到大幅度提升，针对复杂的模板也能快速准确的完成 PCR 反应。其保真性显著提高，且解决了常规高保真酶无法以 dUTP 为原料进行聚合反应、无法使用含有 dUTP 的扩增引物以及无法使用含有 dUTP 的 DNA 作为扩增模板等诸多问题。本产品配备了优化后的酶缓冲液，添加了 PCR 增强组分，使得该酶具有极强的扩增效率和广泛的模板适应性，适合复杂模板的扩增。其扩增产物为平末端。

### 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		10145ES60	10145ES76
10145-A	Hieff Canace <sup>®</sup> Uracil+ High-Fidelity DNA Polymerase(1 U/ $\mu$ L)	100 $\mu$ L	500 $\mu$ L
10145-B	2 $\times$ Canace <sup>®</sup> Uracil+ PCR buffer (含 Mg <sup>2+</sup> , dNTPs)	3 $\times$ 1 mL	15 $\times$ 1 mL

### 运输和保存方法

冰袋运输。-20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 1 年。

### 产品应用

使用含 dUTP 的引物进行高保真文库扩增；  
 使用含 dUTP 的模板进行高保真文库扩增；  
 使用含 dUTP 的 dNTP 进行高保真文库扩增。

### 注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途！

## 使用方法

Hieff Canace® Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase 与常规高保真酶的使用方法略有不同。在使用前，请务必仔细阅读使用说明。

### 1. 推荐反应体系

所有操作应于冰上进行，2×Canace® Uracil+ PCR buffer 解冻后请充分混匀。体系配置之前请预热 PCR 仪，各组分添加完成之后用移液器吸打充分混匀并短暂离心至管底，然后置于预热的 PCR 仪中进行反应。所有组份使用完毕之后及时放回 -20 °C 保存。

表 1. PCR 扩增反应体系

组分	体积 (μL)
模板 DNA	X
2×Canace® Uracil+ PCR buffer (含 Mg <sup>2+</sup> , dNTPs)	25
正向引物 (10-25 μM)	1-2.5
反向引物 (10-25 μM)	1-2.5
Hieff Canace® Uracil+ High-Fidelity DNA polymerase (1 U/μL)	1
ddH <sub>2</sub> O	Total to 50

#### 【注】:

- 1) 模板: 使用纯化后的高质量 DNA 模板可以显著提高扩增效率和成功率。
- 2) dNTPs: 反应体系中 dNTPs 使用终浓度为 200 μM。试剂盒中提供的 dNTPs 中不含 dUTP，如特殊情况下需要制备含 dUTP 的模板，可自行额外添加 dUTP 至终浓度为 400 μM。
- 3) 聚合酶浓度: 在 50 μL 体系中，推荐使用 1 U，可以在 0.5-2 U 之间进行优化，请勿超过 2 U。为了防止聚合酶因 3'→5' 外切酶活性降解引物，建议将聚合酶在最后一步加到反应体系中。
- 4) Mg<sup>2+</sup> 终浓度: 反应体系中 Mg<sup>2+</sup> 终浓度为 2 mM。如有特殊需要，可向我公司咨询，要求提供低 Mg<sup>2+</sup> 浓度或不含 Mg<sup>2+</sup> 的 buffer。

### 2. 推荐反应程序

表 2. PCR 扩增反应程序

温度	时间	循环数
98°C	1 min	1
98°C	10 sec	1-15 (根据实验要求)
60°C	30 sec	
72°C	30 sec	
72°C	5 min	1
4°C	Hold	-

#### 【注】:

- 1) 预变性温度推荐使用 98°C。预变性推荐时间: 质粒 DNA 等简单模板为 30 sec; 文库为 1 min; cDNA、基因组 DNA 等复杂模板为 3 min; 高 GC 含量模板为 5-10 min。
- 2) 退火温度推荐使用 60°C，也可根据需要，设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间为 20 sec，可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。
- 3) 延伸温度和时间: 推荐使用 72°C，延伸时间根据实际需要进行调整。