

Superbrilliant[®] Z5 热启动超保真 PCR 预混液 (5×,with Dye)**Superbrilliant[®] Z5 HotStart HiFi PCR Master Mix (5×,with Dye)****Cat.No.:** ZS-M12003

组分:

货号	名称	ZS-M12003S (25T×50 μl)	ZS-M12003M (50T×50 μl)	ZS-M12003L (400T×50 μl)
103011	5× HotStart HiFi Z5 PCR Mix (with Dye)	250 μl	500 μl	1ml ×4
	说明书	1 份	1 份	1 份

储存: 长期储存置于-20°C 以下, 可保存 3 年; 短期使用置于 4°C (12 个月) 保存。

简介: 对于测序、SNP 检测、蛋白表达和基因功能研究等应用而言, 高保真扩增是很关键的。Z5 超保真 DNA 聚合酶来源于高保真 Pfu DNA 聚合酶, 具有很强的 3'-5'校正活性, 因此在 PCR 扩增过程中出错的几率极大降低。经基因工程改造后, 使具有 100 倍于 Taq DNA 聚合酶的保真能力, 除此外其还具有 6 kb/min 的延伸速度。扩增能力强, 扩增速度快, 具有高保真性, 高特异性。可用于载体构建、突变修复、基因合成、DNA 测序等高保真要求较高的试验。该酶的扩增产物为平端产物, 不含“A”尾, 可直接克隆于 Superbrilliant[®] ZERO-Blunt 零背景平末端克隆载体 (ZS-M16002), 如需进行 T/A 克隆, 需在 PCR 产物末端添加“A”后进行克隆。本产品中的 DNA 聚合酶具有热启动功能, 可有效的控制低温情况下的非特异扩增和酶活损耗, 进而保证了 PCR 扩增的特异性和稳定性。预混液可对多种模板进行超强扩增, 以λDNA 为模板可轻松扩增 15kb 基因片段, 以人基因组为模板可轻松扩增 8kb 的基因片段。

5× HotStart HiFi Z5 PCR Mix 是经优化的即用型 PCR 预混物, 含有经抗体封闭的热启动 Z5 超保真 DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR 增强剂和稳定剂, 使用时只需加入模板、引物和灭菌水即可进行 PCR 扩增, 大大简化了操作过程、减少 PCR 扩增操作时间、提高了效率、避免因多步操作带来的污染、减少了 PCR 操作过程中的人为误差。具有快速简便、重复性高、特异性好、灵敏度高和稳定性好的特点。该制品中已经含有溴酚蓝染料, PCR 扩增完后可直接点样于琼脂糖凝胶, 无需再加入 DNA Loading Buffer, 如用于克隆时, 需纯化去掉染料。本产品中还整合了 PCR 增强剂组分, 可以提高 Superbrilliant[®] Z5 热启动超保真 PCR 预混液对 PCR 反应抑制剂的耐受能力和对不同 GC 含量模板

的适应能力，因此可以在扩增高级结构复杂的产物和 PCR 抑制剂含量较高的 PCR 体系时使用。

使用方法

1. 室温融解 5XHotStart HiFi Z5 PCR Mix (with Dye)。
2. 按下表配制反应体系并混合均匀：

5×HotStart HiFi Z5 PCR Mix (with Dye)	10 µl
上游引物(10 µM)	2 µl
下游引物(10 µM)	2 µl
模板 DNA	1-500 ng
ddH ₂ O	up to 50 µl

*模板 DNA 用量参数 (50µl 反应体系)

模板 DNA (目的片段≤15 kb)	}	25-250 ng Genomic DNA
		1-10 ng Plasmid DNA
		1-2 µl cDNA from RT reaction

3. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
1 st Cycle	95°C	2 min
25-35Cycles	95°C	10 s
	55~68°C	20 s
	72°C	2 kb/min
Last Cycle	72°C	5 min

(1) 在以质粒为模板的情况下, 可按照 5 kb/min 设置延伸时间, 在以基因组 DNA 和 cDNA 为模板条件下, 可按照 2 kb/min 设置延伸时间。

(2) 以 Z5 PCR Mix 进行 PCR 反应时引物长度通常在 18~23bp 为宜, GC 含量 40~60% 为最佳。GC 含量超过 65% 以上的模板建议使用 5XQ Solution (Cat No.ZS-M-1058)。

(3) 由于 Z5 DNA 聚合酶具有较强的引物模板结合能力, 通常情况下 T_M 值较 Taq DNA 聚合酶高 3~5°C。因此, 退火温度可提高 3~5°C。

4. 向 50 μ l 体系 PCR 产物中加入 1 μ l 0.5M 的 EDTA。

注: 10mM EDTA 可以抑制 3'-5' 外切酶活性, 防止 PCR 产物被降解。

5. 琼脂糖凝胶电泳: 直接取 5 μ l 扩增产物进行电泳检测。

Z5-500bp Z6-500bp Z5-1000bp Z6-1000bp M Z5-2000bp Z6-2000bp Z5-5000bp Z6-5000bp

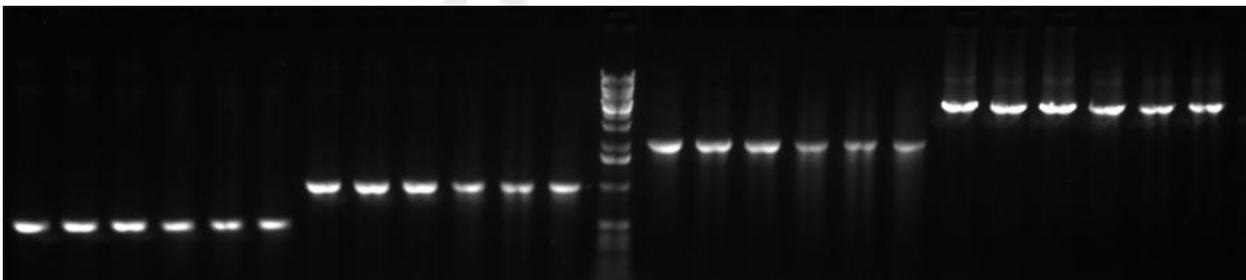


Fig 1. 以 ITCH 质粒 (500bp, 1000bp, 2000bp) 和 λ 基因组 DNA (5000bp) 为模板, 应用 Superbrilliant[®] Z5 HotStart HiFi PCR Master Mix 和 Superbrilliant[®] Z6 HotStart HiFi PCR Master Mix, 分别扩增 500bp, 1000bp, 2000bp、5000bp 的片段, 每个片段 3 个复孔, 1% 琼脂糖电泳, M 为 DL2000 Marker。