



## OptiPro High-Fidelity DNA Polymerase (1U/ $\mu$ l)

### ● 产品规格

产品组成	产品货号/规格			
	KTSM 0017S(250U)	KTSM 0017M(1,000U)	KTSM 0018S(250U)	KTSM 0018M(1,000U)
OptiPro High-Fidelity DNA Polymerase (1U/ $\mu$ l)	200ul $\times$ 1	200ul $\times$ 4	200ul $\times$ 1	200ul $\times$ 4
dNTPs (10mM each)	1ml $\times$ 1	1ml $\times$ 4	-	-
5 $\times$ OptiPro Buffer with Mg <sup>2+</sup>	5ml $\times$ 1	5ml $\times$ 4	5ml $\times$ 1	5ml $\times$ 4

### ● 产品说明

此款 OptiPro High-Fidelity DNA Polymerase (1U/ $\mu$ l)是新一代的高保真 DNA 聚合酶，由 Pyrococcus Furiosus DNA Polymerase 分子进化技术改造而来，在大肠杆菌中表达后经多次纯化分离制得。改造后的酶扩增灵敏度高、延伸速度快，且保真度显著提升。保真性是 Taq DNA 聚合酶的 80 倍，普通 Pfu DNA 聚合酶的 9 倍。能够高效、快速扩增 $\leq$ 10kb 片段目的基因片段（最长可达 30kb），具有 5'  $\rightarrow$  3' 的聚合活性和 3'  $\rightarrow$  5' 的外切活性。

### ● 产品应用

- 1) 适用于要求保真度高的 PCR 反应：例如基因克隆、DNA 片段拼接、定点突变、全基因合成、DNA 末端补平等；
- 2) 复杂/高 GC/高 AT DNA 模板扩增；
- 3) 高通量建库；

### ● 活性定义

在 74°C 条件下，30 分钟内催化 10nmol dNTPs 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量为一个单位。

### ● 质量控制

经多次柱纯化，SDS-PAGE 胶检测测其纯度大于 95%；无核酸内、外切酶污染。

### ● 保存温度

-20°C。

声明：本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序等。

### ● 操作说明



## 1. 常规 PCR 反应体系（冰上配制）

组分	添加量(μl)
ddH <sub>2</sub> O	To 50
5×OptiPro Buffer with Mg <sup>2+</sup>	10
dNTP Mix (10 mM each)	2
模板 DNA	optional
引物 1(10 μM)	0.2-1.0μM（终浓度）
引物 2(10 μM)	0.2-1.0μM（终浓度）
OptiPro High-Fidelity DNA Polymerase (1U/μl)	0.4

【注】:1) 5×OptiPro Buffer with Mg<sup>2+</sup>中 Mg<sup>2+</sup>终浓度为 2mM, 如有需要, 可自行补加在 1.5-4 mM 之间摸索 Mg<sup>2+</sup>最佳使用浓度。

2) 聚合酶添加: 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。

3) 聚合酶浓度: 50μL 体系推荐使用 0.4μL。对于某些 PCR, 可适当增加酶量, 在 0.005-0.4 U/μL 之间摸索。

4) 不同模板的推荐使用量 (50 μL 反应体系):

模板种类	扩增片段
基因组	DNA 10 ng-200 ng
质粒	10 pg-20 ng
cDNA	1-5 μL (不超过反应体系的 1/10)

## 2. PCR 扩增程序

循环数	温度 (°C)	时间
1	95-98	3min
20-35	98	20 sec
	~T <sub>m</sub>	10-30 sec
	72	15-30 sec/kb
1	72	5 min
1	4	保温

【注】:1) 预变性温度可在 95-98 °C, 时间 1-5min 调整。模板复杂或高 GC 模版可适当降低温度增加预变性时长。

2) 菌液 PCR 时预变性温度设为 95 °C, 时间 3min, 更有利于破壁。

3) 退火推荐温度: 60°C; 根据引物 T<sub>m</sub> 值设置合适退火温度, 退火温度过低, 会造成非特性扩增; 过高可能扩增不到。推荐退火时间设置为 15 sec, 可以在 10-30 sec 内调节。