



0 2 5 - 8 5 6 5 3 5 2 5

www.atgbiotechnology.com

南京市栖霞区江苏生命科技园 D 6 幢 710 室

Proofast[®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase

P221

Version 23.1.1



产品说明书
PRODUCT MANUAL

南京巨匠生物科技有限公司
ATG BIOTECHNOLOGY CO.,LTD

目录 Product Manual

产品简介	1
产品组成	1
产品应用	1
储存条件	1
单位定义	1
质量控制	1
实验方案	2

产品简介

Proofast[®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase 是一种基于 Pfu DNA Polymerase 改造而成的新一代超保真 DNA 聚合酶，具有极高的扩增效率和广泛的模板适应性。经过对 Pfu DNA Polymerase 的分子酶学改造和结构模块组装，Proofast[®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase 的行进性、耐热性和保真性都得到了大幅度提升，同时具有 5'-3'聚合酶活性和 3'-5'外切酶活性，其保真度是普通 Taq 酶的 52 倍，是 Pfu 酶的 6 倍。

Proofast[®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase 是针对 Illumina 和 MGI 高通量测序平台开发设计的专用高保真酶，对于多种样本的 PCR 模板，均有良好的扩增效果。5 × HTSF Buffer 缓冲液已含有 Mg²⁺与 dNTP Mix，其中添加的扩增促进因子，大大提高了文库构建的稳定性和重复性。

产品组成

组分	P221 (100 U)	P221 (500 U)	P221 (1000 U)
5 × HTSF Buffer (with Mg ²⁺ 、dNTP Mix)	1 ml	5 ml	10 × 1 ml
Proofast [®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase (1 U/μl)	100 μl	500 μl	1 ml

产品应用

基因克隆

高通量建库

储存条件

-20℃保存，于-20~0℃运输。▲避免反复冻融。

单位定义

用活化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物，74℃ 30 min 内，摄入 10 nmol 的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

核酸外切酶残留检测：

20 U 本品和 0.6 μg λ-Hind III 在 74℃下孵育 1 h，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：

20 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，37℃温育 4 h，DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测：

20 U 本品和 1 μg HeLa 细胞总 RNA 在 37℃下孵育 30 min，RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测：

50 μ l 体系中, 以 ddH₂O 为模板, 扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 染色, 无扩增条带。

功能检测:

以 10 ng λ DNA 为模板扩增 30 个循环, 1% 琼脂糖凝胶电泳, 染色, 可见各自单一的目的条带。

实验方案

1. 反应体系 (推荐冰上配制):

组分	用量
Total	50 μ l
5 \times HTSF Buffer (with Mg ²⁺ 、dNTP Mix)	10 μ l
纯化或分选后的接头连接产物	20 μ l
PCR Primer Mix	5 μ l
Proofast [®] HTS Super-Fidelity DNA Polymerase (1 U/ μ l)	1 μ l

2. 一般 PCR 反应条件设置:

温度	时间	阶段	循环数
98 $^{\circ}$ C	1 min	Stage 1	Rep: 1
98 $^{\circ}$ C	10 sec	Stage 2	Reps: 3 ~ 19*
60 $^{\circ}$ C	15 sec		
72 $^{\circ}$ C	15 sec		
72 $^{\circ}$ C	5 min	Stage 3	Rep: 1
4 $^{\circ}$ C	Hold		

❖ Library Amplification 步骤需要严格控制扩增循环数。循环数不足, 会导致文库产出不足; 循环数过多, 又会导致过度扩增、偏好性增加、重复度增加、嵌合产物增加、扩增突变积累等多种不良后果。下表列举了当使用 100 pg - 1 μ g 高质量 Input DNA 时, 获得 1 μ g 文库推荐的扩增循环数:

Input DNA (Into End Preparation)	Number of cycles required to generate (1 µg)
1 µg	3 ~ 5
100 ng	6 ~ 8
50 ng	7 ~ 9
10 ng	10 ~ 13
1 ng	13 ~ 15
100 pg	17 ~ 19

△ 上表为使用约 300 bp 高质量 Input DNA 时测得的循环数参数。当 DNA 质量较差、文库长度较长时，需适当提高循环数以获取足量文库。

△ 若建库过程中进行过长度分选，则参照较高循环数进行 Library Amplification；若不进行长度分选，则参照较低循环数即可。