Gloria Nova HS 2X Master Mix with Dye

产品目录号：RM20394

产品组分

组分名称	规格 1 1 mL	规格 2 5 mL
Gloria Nova HS 2X Master Mix with Dye	1 mL	1 mL × 5

产品说明

Gloria Nova HS DNA 聚合酶具有高保真性和优异的扩增性能，具有独特的结构，是一种全新的类似 *Pyrococcus furiosus* 来源的突变酶，融合了持续合成增强结构域，提高了保真度和延伸速度，是分子克隆的理想选择。Gloria Nova HS DNA 聚合酶添加了能够抑制 5'-3'聚合酶活性的单克隆抗体，可进行高特异性的热启动 PCR。Gloria Nova 拥有优异的保真性，是目前保真度最高的热稳定 DNA 聚合酶之一。Gloria Nova HS DNA 聚合酶具有 5'-3'持续合成活性和 3'-5'核酸外切酶活性，无 5´-3´核酸外切酶活性，其扩增产物是平末端。

Gloria Nova HS 2X Master Mix with Dye 是经过优化的预混液，包含有 DNA 聚合酶、dNTPs、$MgCl_2$、KCl、稳定剂和指示剂等，只需加入模板和引物即可进行扩增，针对多种模板如动物、植物、cDNA 等，均有良好的扩增效率。试剂中包含了 DNA Loading 染料，可在反应结束后直接进行电泳，不用另外添加 Loading buffer，使用方便快捷。

保存温度

-20℃

操作说明

标准操作

1. 推荐将所有的反应组分在冰上配制，然后快速将反应体系转移到预热到 98℃ 的 PCR 仪中。
2. 注意，本试剂的操作方法可能与其他聚合酶的标准方法不同。请使用下面推荐的反应条件以获得最佳扩增效果。

推荐的 PCR 反应体系

组分	25 μL	50 μL	终浓度
Gloria Nova HS 2X Master Mix with Dye	12.5 μL	25 μL	1X
上游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
下游引物（10 μM）	0.5 μL	1 μL	0.2 μM
DNA 模板*	Variable	Variable	<300 ng
Nuclease-free Water	to 25 μL	to 50 μL	N/A

*，注：不同 DNA 模板最佳反应浓度不同，可参考 PCR 基本原则。

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	3 min	1
变性	98℃	10 s	25-35
退火	55-65℃	20-30 s	
延伸	72℃	30 s/kb*	
终延伸	72℃	1-5 min	1
Hold	4-12℃	-	1

*，注：适当延长延伸时间有助于扩增产量的提高，对于复杂的扩增模板，如基因组 DNA，建议按 60 s/kb 速度进行延伸，更多推荐条件可参考 PCR 基本原则。

PCR基本原则

1. 模板

使用高质量纯化的 DNA 模板将增加 PCR 的成功率，在 50 μL 反应体系中推荐加入的 DNA 模板量如下：

DNA 类型	模板量
植物，动物及人基因组 DNA	10 ng-100 ng
E.coli，lambda 基因组	500 pg-200 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng

注意：如果 DNA 模板是从 cDNA 合成反应中获得的，则添加的体积应小于总反应体积的 10%。若扩增长片段，可适当增加模板投入量。

2. 引物

寡核苷酸引物长度通常是 20-40 nt，理想 GC 含量 40-60%。可以使用软件例如 Primer 3 设计和分析引物。PCR 反应体系中每条引物的终浓度可以在 0.1-1 μM 范围内调整，一般使用 0.2 μM。

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

3. 变性

在扩增循环中，对大多数 DNA 模板推荐的变性条件是 98℃ 5-10 s。

4. 退火

Gloria Nova HS DNA 聚合酶的退火温度往往高于其他 PCR 聚合酶。通常，可以默认退火温度为 60℃；对大于 20 nt 的引物，按(较低引物 Tm+3)℃进行退火 10-30 s；对小于 20 nt 的引物，则应采用与较低引物 Tm 相当的退火温度。使用每个新的引物对进行扩增时，需要通过温度梯度确定优化退火温度。使用两步法进行扩增循环，温度梯度可以设置为与延伸温度相同。

5. 延伸

推荐延伸温度为 72℃，延伸时间取决于扩增基因的长度和复杂程度。通常可以按 30-60 s/kb 速度进行延伸。简单模板如 Ecoli、Lambda，以及较为复杂的模板延伸时间在 30 s/kb 左右；对于复杂的扩增子，如基因组 DNA，建议按 60 s/kb 速度进行延伸。如果需要，可以降低 cDNA 模板延伸速度到 60 s/kb。

6. 循环数

通常进行 25-35 个循环可以得到足量的 PCR 产物。

7. PCR产物

Gloria Nova HS DNA 聚合酶产生的 PCR 产物是平末端；如果下一步进行克隆实验，建议使用平末端克隆，推荐使用无缝克隆(ABclonal RK21020)和拓扑克隆试剂盒（ABclonal RK30130）。

如果需要进行 T/A 克隆，在加 A 前应先纯化 DNA，因为 Gloria Nova HS DNA 聚合酶会将降解产生的 dA 突出。可以使用 Taq DNA 聚合酶(ABclonal RK20600)或 Klenow exo - (ABclonal RK20526)对纯化的 DNA 加 dA。

8. 复杂模板

对于常规 PCR 无法扩增的复杂模板（如长片段,Tm 分布不均匀,特殊结构模板），可以尝试两步法或者 touchdown 法。

两步法推荐反应程序如下:

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	3 min	1
变性	98℃	10 s	25-35
退火/延伸*	65-72℃	60 s/kb	
终延伸	65-72℃	1-5 min	1
Hold	4-12℃	-	1

*，注：一般情况下推荐 68℃，具体可以根据 Tm 值改变

Touchdown 推荐反应程序如下:

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	3 min	1
变性	98℃	10 s	5
延伸	74℃	60 s/kb	
变性	98℃	10 s	5
延伸	72℃	60 s/kb	
变性	98℃	10 s	5
延伸	70℃	60 s/kb	
变性	98℃	10 s	25
延伸	68℃	60 s/kb	
终延伸	72℃	1-5 min	1
Hold	4-12℃	∞	1