

产品组分

组分名称	规格 1	规格 2
	1 mL	5 mL
Gloria Nova HS 2X Master Mix with Dye V2	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 V2 是经过优化的预混液，包含有 DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、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°C

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 95°C 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。因此，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 V2	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, 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
<i>E. coli</i> DNA, lambda DNA	500 pg-200 ng
质粒 DNA	1 pg-10 ng
cDNA	1 - 5 µL (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

推荐的 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	3 min	1
变性	95°C	15 s	25-35
退火	60°C*	30 s	
延伸	72°C	10 s/kb**	
终延伸	72°C	5 min	1
Hold	4-12°C	-	1

*, 注: 通常退火温度可以默认为 60°C, 对大于 20 nt 的引物, 按(较低引物 T_m+3)°C 进行退火, 对小于 20 nt 的引物, 则应采用与较低引物 T_m 相当的退火温度。

**, 注: 一般可以按 10 s/kb 速度进行延伸; 对于较为复杂的模板或长度在 10 kb 以上片段, 可以适当延长延伸时间至 15 s/kb。

常见问题及对策

1. 扩增产量低或者无法扩增:

- PCR 引物问题: 设置阳性对照反应;
- 退火温度不合适: 调整退火温度, 进行梯度优化实验;
- PCR 体系中引物浓度偏低或循环数不足: 适当增加引物用量, 或者增加扩增循环数;
- 延伸时间不足: 延长延伸时间至 15 s/kb;
- 抑制剂作用: 使用高纯度模板, 或模板稀释后进行扩增。

2. 存在非特异性扩增条带:

- PCR 体系中引物浓度或 DNA 模板浓度过高: 适当降低引物和模板用量;
- 退火温度过低或循环数太高: 提高退火温度, 或降低循环数, 可以进行梯度优化实验;
- PCR 引物错配: 重新设计 PCR 引物。