

产品组分

组分名称	规格 1	规格 2
	1 mL	5 mL
Gloria Nova HS 2X Master Mix 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 V2 是经过优化的预混液，包含有 DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl₂、KCl、稳定剂等，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。

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，Gloria Nova HS 2X Master Mix V2 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 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。