产品概述

AmpHifi HS DNA Polymerase III为新一代热启动型高保真 DNA 聚合酶，通过定点突变与结构域重组工程改造，显著提升了 DNA 结合亲和力与持续合成能力。该酶对 GC 富集（GC-rich）模板、痕量模板均具备优异的扩增兼容性；经标准错配率测定验证，其复制保真度约为野生型 Taq DNA 聚合酶的 150 倍。本产品适用于常规 PCR 扩增、高通量测序（NGS）文库构建扩增等分子生物学实验。

试剂组成

组分	BR3P103-51 (100 U)	BR3P103-54 (500 U)	BR3P103-56 (1000 U)
5×HiFi Buffer III	1,000 μL	1,000 μL×5	1,000 μL×10
AmpHifi HS DNA Polymerase III	100 μL	500 μL	500 μL×2

保存条件

-20±5℃存储。

注意事项

1. 推荐使用无核酸酶污染的耗材，并对实验区域定期进行清理。
2. PCR 所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 请使用高质量、高纯度模板。
4. 本产品仅用作科研用途。

使用方法

1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂在室温或冰面上解冻后，轻弹混匀并瞬时离心，置于冰上备用。按照表 1 配置反应液：

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积（μL）	备注
模板 DNA	适量 [a]	<250 ng
Forward Primer (10 μM)	2 [b]	0.4 μM
Reverse Primer (10 μM)	2	0.4 μM
5× HiFi Buffer III	10	1×
AmpHifi HS DNA Polymerase III	1 [c]	1 U/50 μL
ddH_2O	Up to 50	

注 a：基因组 DNA：50 ng~250 ng，质粒或病毒 DNA：1 pg~10 ng。

注 b：可适当将引物终浓度降至 0.1 μM~0.2 μM；扩增测序文库时，推荐引物终浓度为 1 μM。

注 c：可根据具体应用调整酶量，但不建议超过 5 U/50 μL。

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

2. PCR 扩增程序

2.1 根据**表 2** 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序：

表 2. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105℃	/	/
预变性	98℃	30 sec [a]	1

变性	98℃	10 sec	25~35
退火	55~72℃ [b]	10~30 sec	
延伸	72℃ [c]	20 sec/kb	
完全延伸	72℃	3~5 min	1
保温	4℃	∞	1

a. 推荐预变性在 98℃下进行 30 sec~1 min.

b. 退火温度可在 Tm±2℃调整，具体温度取决于引物长度和 GC 含量，合适的退火温度可大幅提升扩增成功率，推荐在正式实验前进行优化。

c. 若引物 Tm 值≥72℃，可将退火和延伸合并为一步，并按 30 sec/kb 延伸。