

产品名称&产品编码

产品名称: 2X Pfu Master Mix

产品编码: P016-1ml

产品简介:

本产品包含最高纯度DNA聚合酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液、PCR反应的增强剂、优化剂以及稳定剂,浓度为2×。该酶具有快速的DNA合成速度(15秒/kb),且灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点,最大扩增20kb以上,可用于高特异性PCR反应及GC含量较高(>60%)具有二级结构等复杂模板的扩增和大规模基因检测。PCR产物的3'端没有突出的"A"碱基。

本产品不含染料,在PCR反应完成后,需添加上样缓冲液就能上样进行电泳;也可经过纯化处理,以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

常用反应体系: (20 μl 体系为例)

2× Pfu Master Mix	10ul
Primer 1 (10 μM)	0.4-2.0μl
Primer 2 (10 μM)	0.4-2.0μl
Template DNA*	<1ug
ddH ₂ O	Up to 20 μl

注:

1. 将PCR反应所需溶液室温平衡至完全溶解充分混匀后于冰上进行PCR反应体系配置。
2. 按照推荐的扩增体系完成加样后,温和混匀并短暂离心后再放入PCR仪进行反应。

常用 PCR 循环:

预变性	98°C	30 sec -3 min	1
变性	98°C	5-10 sec	25-40Cycles
退火	55-65°C	10-30 sec	
延伸	72°C	10-15 sec/kb	
彻底延伸	72°C	5 min	1
降温	4-16°C	Hold	1

注: 反应条件可以根据实际需求进行适当调整和优化。

1. 若是以下情况 循环数请调整

质粒或基因组模板: 25-35cycles;

cDNA 模板: 30-40cycles

2. 根据引物选择合适的退火(延伸)温度,引物终浓度可在0.2-1.0μM范围内调整。

3. DNA模板可根据浓度进行适当调整,质粒DNA(1ng-30ng),基因组DNA(10-1000ng),

病毒DNA(10pg-10ng),cDNA模板(1~5μL反转录产物),针对复杂DNA以及高GC含量模板,可选择GC Enhancer,可显著增强扩增效果。

4. 在粗提物做模板或者模板具有复杂序列的情况下,把延伸速度改成30-60sec./kb扩增效率会有很大改善。

5. PCR反应完成后切勿直接打开反应管,可放于4°C或者-20°C充分冷却后再进行开盖操作,以减少PCR产物可能对实验环境产生污染的风险。