

2×*Pfu* PCR StarMix Loading Dye-free

2×无染料 *Pfu* 预混 PCR 反应体系

货号: A023-10
保存: -20°C
运输: 2~8°C

货号	规格
A022-01	1 ml x 1 支, 含染料
A022-05	1 ml x 5 支, 含染料
A022-10	1 ml x 10 支, 含染料
A023-01	1 ml x 1 支, 无染料
A023-05	1 ml x 5 支, 无染料
A023-10	1 ml x 10 支, 无染料

【产品概述】

本产品为预混的含有优化浓度的 GenStar 高纯度 *Pfu* DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液以及稳定剂等成分的即用型 2 倍浓度的 PCR 溶液, 适用于对保真性要求较高的 DNA 片段的扩增, 如基因克隆、定点突变、SNP 分析等, 也可用于 DNA 片段的末端补平。本产品具有快速简便、灵敏度高、稳定性好等优点, 使用时只需加入 DNA 模板和引物, 并用水补足体积, 可最大限度地减少人为误差、节约时间、降低污染几率。PCR 产物无 3'端突出碱基, 不可直接用于 TA 克隆。

本产品有含染料(红色)和不含染料(无色)两种选择。使用含染料的产品在 PCR 反应完成后, 不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳; 也可经过纯化处理, 以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。红色染料可指示电泳进程, 其迁移速度在 1% TAE 琼脂糖凝胶中与 300 bp 双链 DNA 片段相近。

【产品组分】

2×*Pfu* PCR StarMix 1 ml
ddH₂O 1 ml

【保存条件】

-20°C 恒温保存一年, 避免反复冻融。经常使用, 可置于 4°C 保存至少三个月。

【使用方法】

用户需自备的试剂: DNA 模板、引物

操作示例: 以 50 μl PCR 反应体系为例

1. PCR 反应体系的建立:

DNA 模板*	1 μl
正向引物 (10 μM)	1 μl
反向引物 (10 μM)	1 μl
2× <i>Pfu</i> PCR StarMix	25 μl
ddH ₂ O	22 μl

2. PCR 反应条件的设置:

94°C	2 min	} 25~35 循环
94°C	30 sec	
55~65°C	30 sec	
72°C	2 min/1 kb	
72°C	5 min	

* 模板量: 10~1000 ng 基因组 DNA, 1~30 ng 质粒, 或 1~2 μl RT-PCR 反应后的 cDNA。

注意: 以上举例为常规 PCR 反应系统, 仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件, 并根据比例放大或缩小反应体系。

3. 结果检测: 取 2 μl 反应液电泳观察结果。含染料产品可直接上样电泳, 无染料产品需添加上样缓冲液后进行电泳。

【补充说明】

- Pfu* DNA Polymerase 具有 3'→5' 的外切酶活性, 故扩增时延伸速度比 *Taq* DNA Polymerase 低, 约为 2 min/1 kb, 应根据扩增产物的长度设置相应的延伸时间。
- 用 2×*Pfu* PCR StarMix 扩增时, 引物长度应大于 18 个碱基, T_m 在 55~80°C 之间, 引物浓度在 0.1~0.5 μM 之间, 比 *Taq* 酶略高。
- Pfu* DNA Polymerase 比 *Taq* DNA Polymerase 的热稳定性好, 95°C 下 1 小时仍可保持 90% 以上的活性。因此对于 GC 含量很高的模板, 变性温度可以提高到 98°C, 对 *Pfu* DNA Polymerase 的活性无影响。
- 2×*Pfu* PCR StarMix 对质粒 DNA 模板的扩增上限为 10 kb, 基因组 DNA 模板的扩增上限约为 6 kb。但通常 *Pfu* DNA Polymerase 对 2 kb 以上片段的扩增效率明显降低, 故在扩增对保真性要求较高的片段时, 可使用 2×HiFiTaq DNA Polymerase (货号 A017-01 或 A018-01)。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。