

2 × Pfu PCR MasterMix

使用手册 V2.0

北生京泽(启东)生物科技有限公司 江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号 网址:www.bsgeneze.com;电话:40001-59600



逆产品及特点

本产品包含 Pfu DNA 聚合酶、dNTPs、 $MgCl_2$ 、反应缓冲液、PCR 的增强剂和优化剂以及稳定剂,浓度为 $2 \times$ 。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点,可最大限度的减少人为误差。适用于高保真 PCR、复杂模板如 GC 含量高(>60%),有二级结构的扩增和大规模基因检测。它具有下列特点:

- 1. 显著提高 PCR 的特异性和灵敏度;
- 2. 多次冻融或长期放于 4℃不会影响活性;
- 3. 快速简便,大大降低劳动强度和取样误差,而且加入了高性能的 PCR 增强剂和优化剂,降低了对 PCR 条件的要求;
- 4. 分含染料和不含染料两种体系。含染料的 MasterMix 产品在 PCR 结束后可以直接电泳, 无需加入上样缓冲液。

□成分规格

目录号	产品名称	包装
GZ020103-1	2×Pfu PCR MasterMix	1 ml
GZ020103-5	(含染料)	5×1 ml
GZ020104-1	2×Pfu PCR MasterMix	1 ml
GZ020104-5	(不含染料)	5×1 ml

一保存条件

-20 $^{\circ}$ 可长期保存,多次冻融不会影响活性。如需经常使用,可存放于 4 $^{\circ}$ 0。

世使用方法

(注意:以下举例为常规PCR体系和反应条件,实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的调整和优化)

1. PCR体系

推荐反应体系(20 ul)



试剂	用量
模板 DNA	< 1µg
Primer 1 (10 μM)	0.5 μl
Primer 2 (10 μM)	0.5 μl
2×Pfu PCR MasterMix	10 μl
ddH_2O	Up to 20 µl

(注意: 引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下,可提高引物的浓度;发生非特异性反应时,可降低引物浓度,由此优化反应体系)

2. PCR 程序

-			
过程		温度	时间
 预变性		94℃	2 min
25 ~ 35 — cycles —	变性	94℃	30 sec
	退火	55 ~ 65°C	30 sec
	延伸	72°C	60 sec/kb
—————————— 最后延伸		72℃	5 min

(注意:a 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 Tm 低 5℃,无法得到理想的扩增效率时,适当降低退火温度;发生非特异性反应时,提高退火温度,由此优化反应条件。b 延伸时间应根据所扩增片段大小设定,Pfu DNA Polymerase 的扩增效率为1 kb/min。c 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少,扩增量不足;如果循环次数太多,错配机率会增加,非特异性背景严重。所以,在保证产物得率的前提下,应尽量减少循环次数)

3. 结果检测:反应结束后取5 µl反应产物,加入适量上样缓冲液(含染料的不用加),然后进行琼脂糖凝胶电泳检测。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ020101-1	2×Taq PCR MasterMix(含染料)
GZ020105-1	2×Taq Plus PCR MasterMix(含染料)
GZ020107-1	2×Fast HiFi PCR MasterMix(含染料)
GZ070104	6×Loading Buffer
GZ070105	50×TAE
GZ070106	10×TBE





关注京泽微信公众号 了解更多产品资讯

北京大学生命科学华东产业研究院生物试剂中心 北生京泽(启东)生物科技有限公司 联合研制 网址: www.bsgeneze.com; 电话: 40001-59600