



## 2×Pfu PCR MasterMix

(不含染料)

Catalog# ZT 206

目录编号	产品名称	2×Pfu PCR MasterMix(不含染料)	ddH <sub>2</sub> O
■ZT206-1	2×Pfu PCR MasterMix(不含染料)	0.5ml	1.2 ml
□ZT206-2	2×Pfu PCR MasterMix(不含染料)	5ml	6 ml

Store at -20 °C

LOT#30G10A

### 适用范围：

1. 高保真基因克隆：如基因表达克隆、基因定点突变、细胞内基因点突变分析（SNP）和平末端补平等。
2. 复杂DNA模板（如GC含量高，二级结构）的扩增。
3. PCR产物3' 端附没有突出的“A”碱基，纯化后可用于平端克隆；若用于T/A克隆，需加A后方可使用。
4. 大量高保真需求的基因克隆：如cDNA文库的建立等。

### 产品介绍:

本产品为预混的含有Pfu DNA聚合酶、dNTPs、反应缓冲液、mg<sup>2+</sup>、PCR反应增强剂以及稳定剂等成分的2×PCR体系，使用时只需加入DNA模板和引物，并用水补足体积。本产品具有快速简单、灵敏度高、特异性强、稳定性好等优点，可最大限度地减少人为误差、节约PCR实验操作时间、降低污染几率。不含有染料，在PCR反应完成后，产物需添加上样缓冲液即可直接进行电泳，也可纯化回收后用于酶切、克隆、测序等后续反应。选用的Pfu DNA聚合酶具有比Taq酶更高的耐热活性，98℃时1小时后可保留90%以上的酶活性。具有5' -3' DNA聚合酶活性和3' -5' 外切核酸酶活性（校正活性），pfu酶是目前已发现的所有耐高温DNA Polymerase中出错率最低的。在PCR反应中，pfu DNA Polymerase延伸速度为0.5-1 kb/分钟，产物3' 端为平端，可用平端载体克隆。

### 质量控制:

经检测无外源核酸酶活性；PCR方法检测无宿主残余 DNA ；能有效地扩增人基因中的单拷贝基因；室温存放一周，无明显活性改变。

### 使用注意事项:

- Pfu酶具有3' -5'的外切酶活性,因此Pfu酶扩增延伸速度和扩增效率远低于Taq酶,其扩增效率仅为Taq酶的1/6。应根据扩增产物的长度酌情增加酶量和相应的延伸时间。一般情况下Pfu酶的延伸速度为每分钟600bp;一般用量为每20ul体系用酶1单位左右,或酌情增减。
- 用Pfu酶扩增时,引物长度应大于18个碱基,Tm在55-80°C之间,引物浓度在0.1-0.5uM之间,比Taq酶略高。
- Pfu酶的热稳定性比Taq酶好,对于GC含量很高的模板,变性温度可以提高到98°C,对Pfu酶的活性无影响。

### 反应举例:

**提示:** 以下举例仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异,需根据实际情况,设定最佳反应条件

1.以人基因组DNA为模板,扩增1kb的片段,

反应体系为25μl(如反应体系不同,可按此比例增加或减少用量)。

Template	<1ug	PCR反应循环的设置: 94°C 3 min 94°C 50sec 55°C 50sec 72°C 1min 72°C 5 min 32cycles
Primer 1(10uM)	1ul	
Primer 2(10uM)	1ul	
2×Pfu PCR MasterMix	12.5ul	
ddH2O	补至25μl	

**具体操作请参考本说明书的使用注意事项!**

2.结果检测: 反应结束后取5μl反应产物,琼脂糖凝胶电泳检测。