

2×Fast Pfu Master Mix

目录号：E035-01

01/ 产品描述

本制品是将PCR反应所需的Fast Pfu酶、dNTPs、MgCl₂、反应缓冲液以及优化剂以及稳定剂，预先配制成2倍浓度的混合物。2×Fast Pfu Master Mix专为扩增克隆DNA片段优化，高保真，错误率仅为1.3×10⁻⁶。使用时只需在加入模板和引物并稀释到1倍浓度即可进行PCR反应，非常方便。较普通Pfu酶，2×Fast Pfu Master Mix具有快速、高灵敏度、抗干扰能力强等特点，能获得更理想的扩增结果，并大幅度缩短扩增反应时间，非常适用于1-20kb长片段的扩增。

02/ 产品用途

用于要求保真度比较高，扩增长度较长的PCR反应，包括克隆PCR、DNA片段拼接、引入突变、全基因合成等。

03/ 产品特点

- 1) 高保真：具有同 Pfu 酶相同的保真度，为普通 Taq 酶的 50 倍。
- 2) 灵敏：可从 0.05ng 人基因组 DNA 模板中扩增出特定基因片段。
- 3) 快速高效：Fast Pfu 扩增速度为普通 Pfu 酶的数倍，72℃保温 30 秒可延伸 1kb 以上，可在较短时间内获得高产量的 PCR 产物（图例一）。
- 4) 快捷：PCR 反应所必需试剂全集于一管之中，数分钟即可完成反应体系配制。

04/ 使用建议

Fast Pfu DNA聚合酶产生的PCR产物为平滑末端，无3'端"A"突出，除使用NovoRec® PCR一步定向克隆试剂盒（Cat. No: NR005）外，其它PCR产物的克隆方案有：

- 1) PCR前引物进行5'端加磷修饰或将PCR产物磷酸化处理后再直接克隆于平滑末端的载体中。
- 2) 将产物3'末端加A后再与T载体连接。

3) 由于Fast Pfu DNA聚合酶的校对活性可引起引物从3'端被部分降解。因此在设计引物时应适当增加引物的长度，理想的引物长度为20-30mers。另外为了减少由3'→5'外切酶活性引起的引物降解，尽量在冰上配制反应体系。

05/ 质量控制

经检测无外源核酸酶残留；qPCR 方法检测无大肠杆菌 DNA 残留；能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

06/ 保存温度

-20℃。

07/ 产品包装

产品组成	E035-01A	E035-01B
2×Fast Pfu Master Mix	1ml	1ml×5

08/ 操作说明

1. 常用反应体系（50μl）

2× Fast Pfu Master Mix*	25μl
上游引物	0.2-1.0μM（终浓度）
下游引物	0.2-1.0μM（终浓度）
模板（请根据实际使用模版进行选择，二选一即可）	1-50ng（质粒）
	10ng-1μg（基因组）
ddH ₂ O	至 50μl

* Mg²⁺终浓度为 2mM

2. 推荐 PCR 反应程序

当扩增片段<3K:

循环数	温度	时间
1	94℃	90s
30	94℃	20s
	50-60℃	20s
	72℃	1kb/30s
1	72℃	5min
1	4℃	保温

当扩增片段≥3K（推荐引物长度≥30bp）:

循环数	温度	时间
1	94℃	5min
30	94℃	5s
	68℃	1kb/30s
1	72℃	5min
1	4℃	保温

09/ 应用实例

图例一）50μl扩增体系中，λDNA为模板，扩增1kb-20kb片段。

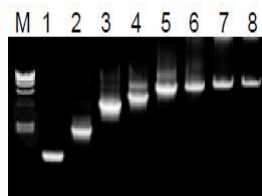
泳道M: λ/Hind III DNAMarker;

泳道1: 1kb; 泳道2: 2kb;

泳道3: 4kb; 泳道4: 6kb;

泳道5: 8kb; 泳道6: 10kb;

泳道7: 12kb; 泳道8: 20kb。



10/ 注意事项

- 1) 需要溶解完全后使用，防止离子浓度不均匀。
- 2) 对高 GC 含量模板，建议将变性温度提高到 98℃。
- 3) 对于高 GC 模板，建议配套使用 PCR 万能增强剂 I（Cat.No: E055）或者添加终浓度为 5%-8% DMSO。

11/ 相关产品

目录号	产品名称	目录号	产品名称
E005-01	2× Taq Master Mix	E005-02	2× Taq Master Mix (Quick Load)
E007-01	2× Taq Plus Master Mix	E007-02	2× Taq Plus Master Mix (Quick Load)
E010-01	2× Specific Taq Master Mix	E010-02	2× Specific Taq Master Mix (Quick Load)
E021-01	2× BenchTop™ Taq Master Mix	E021-02	2× BenchTop™ Taq Master Mix (Quick Load)
E022-01	2× BenchTop™ Fast Taq Master Mix	E022-02	2× BenchTop™ Fast Taq Master Mix (Quick Load)
E029-01	2× Fast Taq Master Mix	E029-02	2× Fast Taq Master Mix (Quick Load)