

2×Pfu MasterMix (含染料)/(无染料) 使用说明书

产品编号: FSL2640/FSL2650

规格: 1mL/5×1mL

保存: -20 度保存, 有效期 2 年。4°C 稳定贮存 3 个月。

经常使用时, 一旦融化后请 4°C 贮存, 尽量避免反复冻融。

产品说明:

本产品包含 pfu DNA 聚合酶、dNTPs、Mg²⁺、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和优化剂以及稳定剂, 浓度为 2×。使用时, 只需补加实验所需的引物和模板后即可进行 PCR 反应, 可最大限度的减少人为误差, 具有快速简便、稳定性好等优点。用于高保真的 DNA 片段的扩增。使用该产品得到的 PCR 扩增产物为平滑末端, 不可以直接用于 TA 克隆, 要通过平滑末端克隆法进行克隆。

产品内容:

Components	货号	规格
2×Pfu MasterMix (含染料)	FSL2640	1mL / 5×1mL
2×Pfu MasterMix (无染料)	FSL2650	1mL / 5×1mL
说明书	1 份	

质量控制:

以λDNA 为模板, 可以很好扩增 10kb 的 DNA 片段; 以水稻基因组为模板, 可以很好扩增 10kb 的 DNA 片段。

使用说明:

1. 冰浴中彻底融化 2×MasterMix, 混匀后 Minispin 将溶液收集到管底。
2. 按照下表在 0.2ml PCR 管中制备反应体系:

	50μl 反应体系	终浓度
2×MasterMix	25ul	1×
上游引物 10μM	1-5ul	0.2-0.8 uM

下游引物 10 μ M	1-5 μ l	0.2-0.8 μ M
模板	\times μ l	10pg-1 μ g
水	补至 50 μ l	

3. 快甩离心将反应液收集到管底。
4. PCR 仪如果没有热盖加热的话，补加 25 μ l 矿物油。
5. PCR 仪上执行以下程序：

步骤	温度	时间	循环数
初始变性	95 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	15 sec	25-40*
退火	T _m -5 $^{\circ}$ C*	15 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	2-6kb/min	
最后延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min	1

注：PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况，设定最佳的反应条件（温度、时间等）。

6. 电泳检测。

注：使用含染料的 2 \times MasterMix 可以直接上样；

不含染料的 2 \times MasterMix 要与 6 \times loading buffer 混合后上样。