**SiDoTek™ 2×Fast Pfu Master Mix**

**2×快速高保真预混液**

**目录号：SDMR1-5a/SDMR1-8a**

**储存条件：-30 ~ -15℃保存2年，≤0℃运输**

**产品内容：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **规格**  **SDMR1-5a** | **规格**  **SDMR1-6a** |
| 2×Fast Pfu Master Mix | 1 mL | 4×1.25 mL |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **规格**  **SDMR1-8a** | **规格**  **SDMR1-9a** |
| 2×Fast Pfu Master Mix (**Dye Plus**) | 1 mL | 4×1.25 mL |

**产品简介**

2×Fast Pfu Master Mix包含2×Fast Pfu DNA Polymerase、dNTP、Mg**2+**及经过优化的预先配制成2倍浓度的PCR反应缓冲体系，其扩增效率高，扩增速度快，具有高保真性和高特异性，仅需加入引物和模板即可进行扩增，减少了繁琐的试验操作，提高了实验操作效率和结果的复现性。2×Fast Pfu Master Mix (Dye Plus)扩增产物可以直接进行电泳，产品如用于克隆，则需经胶回收目标尺寸的PCR产物，同时纯化去除PCR产物中的染料。两种产品的PCR产物均为平末端，可用于高保真PCR，基因定点突变，平端克隆，复杂模板，长片段扩增等。

**产品特点**

高保真:具有同Pfu酶相同的保真度，保真度为普通Taq酶的10倍左右。

快速:Fast Pfu酶的扩增速度为普通Pfu酶扩增速度的数倍，72℃保温30S可延伸1kb以上。

灵敏:可从0.05ng人基因组DNA模板中扩增出特定基因片段，对DNA模板需求量低，扩增灵敏。

快捷:本产品将PCR反应所必需的试剂全集于一管之中，数分钟即可完成反应体系的配制。

便利:本产品在10u1,25ul或50ul体系全部适用，依据需求灵活选择。

**注意事项**

1. 其扩增产物为平端可直接克隆于平端载体中，但不能直接用T/A克隆方式克隆

2. 请于使用前确保产品完全解冻，彻底混匀后短暂离心，置于冰上备用，反复冻融会影响产品的性能。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**使用建议**

本产品中的Fast Pfu DNA聚合酶产生的PCR产物为平滑末端，无3'端"A"突出，其PCR产物的克隆有两种方案:

1、PCR引物进行5'端加磷酸修饰或将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。

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20-30bp 碱基。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。

**实验流程**

**推荐的PCR反应体系：**

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂** | 50 μL**体积** |
| 2×Fast Pfu Master Mix | 25 μL |
| 正向引物 (10μM) | 1~2 μL |
| 反向引物 (10μM) | 1~2 μL |
| 模板 DNA | X μL\* |
| DNase-free Water | Up to 50 μL |

**\*通常每条引物终浓度为 0.2~0.4 μM，效果不佳时也可在 0.1~1 μM 间进行调整。**

**\*基因组DNA推荐用量为10~400ng，模板为质粒或病毒DNA时，推荐用量为10pg~20ng。**

**反应程序设置**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 95℃ | 3~5 min | 预变性 |
| 95℃ | 15 sec |  |
| 58℃\* | 20 sec | 30-35cycles |
| 72℃ | 2~3kb/min |  |
| 72℃ | 5 min | 终延伸 |

**\* 退火温度需要根据引物的 Tm 值进行调整，一般设置成低于引物 Tm 3~5℃。**