****

**2X Hi Fi DNA Polymerase PCR Mix**

**产品组分**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Component | HF1102-01 | HF1102-02 |
| 2 × Hi Fi DNA Polymerase PCR Mix | 1.0 mL | 1.0 mL×5 |

**产品简介**

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。

**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。

**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。

**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，除使用一步定向克隆试剂盒外，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。

**保存条件**

-20℃避光保存，尽量避免反复冻融。

**操作说明**

推荐反应体系

|  |  |
| --- | --- |
| 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） |
| ddH2O | 至 50μl |

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 |

**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万能增强剂或者添加终浓度为 5%-8% DMSO。

**购买须知**

# 根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站。



**全国服务热线：**400-115-2855

**技术邮箱：**tech@beiwobiomedical.com

**市场邮箱：**market@beiwobiomedical.com

**倍沃官网：**[www.beiwobiomedical.com](http://www.biomiga.com.cn/)