

2× pfu PCR Master Mix 含染料

产品编号	产品名称	规格
BL111A	2× pfu PCR Master Mix 含染料	1ml

注：以 50 μ l PCR 反应体系为例，1ml 可 40 次 PCR 反应。

产品简介：

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 \times 。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。

质量保证：

以 λ DNA 为模板，可以很好扩增 5kb 的 DNA 片段；以水稻基因组为模板，可以很好扩增 3.2kb 的 DNA 片段。

使用说明：

- 1、冰浴中彻底融化 2 \times Master Mix，混匀后离心快甩将溶液收集到管底。
- 2、按照下表在 0.2ml PCR 管中制备反应体系：

	50 μ l 反应体系	终浓度
2 \times Master Mix	25 μ l	1 \times
上游引物 10 μ M	1-5 μ l	0.2-0.8 μ M
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	94 $^{\circ}$ C	5 min	1
变性	94 $^{\circ}$ C	30 sec	25-40*
退火	T _m -5 $^{\circ}$ C*	30 sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C	0.5 kb/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：含染料的 2 \times pfu PCR Master Mix 可以直接上样。

注意事项:

- 1、 需要溶解完全后使用，防止离子浓度不均匀。
- 2、 应根据实验目的选择合适循环数，循环数过少，会造成扩增量不足；循环数过多，扩增量增加，但突变率也会增加，并造成非特异性扩增。
- 3、 根据引物 T_m 值设置合适退火温度，退火温度过低，会造成非特异性扩增；过高可能扩增不到。
- 4、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件:

-20°C保存至少一年有效；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。