

### 產品名稱 & 產品編號

產品名稱: pfu Master Mix(2×) Ready to Load  
產品編號: P016

### 製品說明

本製品是將 PCR 反應所需的 pfu 酶、dNTP、Mg<sup>2+</sup>以及反應緩衝液，染料預先配置成 2 倍濃度的混合物。2X pfu Master Mix 專為常規 PCR 擴增反應優化，使用時只需再加入模板和引物並稀釋到 1 倍濃度即可進行 PCR 反應，大大地簡化了操作過程，減少了 PCR 操作過程中的污染。它包含 1 種允許 PCR 產物直接凝膠上樣的高密度試劑和 2 種用於監控電泳過程的染料：藍色染料在 1% 的瓊脂糖凝膠中的遷移率與 3-5kb DNA 片段接近，黃色染料在 1% 瓊脂糖凝膠中的遷移速度比 10bp DNA 片段快。染料的吸收峰分別為 424nm 和 615nm。染料不會干擾 PCR 反應且與下游反應相兼容，如 DNA 測序，磷酸化，連接和限制性酶切反應等。由於 pfu 酶具有 3' -5' 外切酶活性，因此使用本製品擴增得到的 PCR 產物 3' 端不含“A”鹼基，不能直接克隆於 T-Vector 中。

### 特點

- 1 穩定：反復凍融幾十次，4℃放置 30 天，室溫放置一周後，擴增性能不受影響。
- 2 快捷：PCR 反應所必需試劑全集於一管之中，數分鐘即可完成反應體系配置。
- 3 便利：10ul, 25ul 或 50ul 體系全部適用。PCR 反應後可直接上樣凝膠電泳。

### 產品用途

- 1) 常規 PCR 鑑定；
- 2) 基因分型；

### 活性單位定義

1 個活性單位是指：在 70℃，30 分鐘內將 10nmol 脫氧核糖核苷酸合成摻入多聚核苷酸（吸附在 DE-81 上）所需的酶量。

### 常用反應體系 (50ul)

2X pfu Master Mix	25µl
上游引物	0.2-1.0uM(終濃度)
下游引物	0.2- 1.0uM(終濃度)
模板	1-50pg (質粒) ; 10ng-1ug(基因組)
ddH <sub>2</sub> O	至 50ul

### 常用 PCR 循環

1) 當擴增片段 < 3K:

溫度	時間	循環數
94℃	3min	
94℃	30s	30
57℃	30s	
72℃	根據產物長度調整, 120s/1kb	
72℃	5min	
4℃	保溫	

2) 當擴增片段 ≥ 3K(推薦引物長度 ≥ 30bp):

溫度	時間	循環數
94℃	3min	
94℃	20s	30
68℃	根據產物長度調整, 120s/1kb	
72℃	5min	
4℃	保溫	

### 保存

收到本製品溶解後請輕輕混勻分裝到 PCR 反應管中 -20℃ 保存，避免反復凍融，影響製品的性能。