

TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase

目录号: AP231

保存: -20°C保存两年。

产品说明

TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase是用于快速PCR扩增的热启动高保真DNA聚合酶。该酶与TransStart® FastPfu DNA Polymerase相比, 扩增速度更快(4-6 kb/min vs 2-4 kb/min), 扩增能力更强, 产量更高, 保真性更高, 灵敏度更高。

- 保真性是EasyTaq® DNA Polymerase的108倍。
- 扩增产物为平端, 可直接克隆于pEASY®-Blunt 系列载体中。
- 基因组DNA片段的扩增(≤ 15 kb)。
- Plasmid DNA片段扩增(≤ 20 kb)。

特点

- 热启动, 高特异性。
- 强扩增能力。
- 快速、高保真。
- 高灵敏度。
- 高产量。

适用范围

- 复杂模板, 高GC/AT模板的扩增。
- 高保真PCR快速扩增, 平端克隆, 基因定点突变。
- 长片段扩增。

产品组成

| Component | AP231-01/11 | AP231-02/12 | AP231-03/13 |
|--|---------------|-------------|-------------|
| TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase | 250 U×1 | 500 U×1 | 500 U×6 |
| 5×TransStart® FastPfu Fly Buffer | 1.2 ml ×1 | 1.2 ml ×2 | 1.2 ml ×12 |
| 50 mM MgSO ₄ | 200 μl ×1 | 400 μl ×1 | 1 ml ×1 |
| 6×DNA Loading Buffer | 500 μl ×1 | 1 ml ×1 | 1 ml ×2 |
| PCR Stimulant | 200 μl ×1 | 400 μl ×1 | 1 ml ×1 |
| 2.5 mM dNTPs | - / 500 μl ×1 | - / 1 ml ×1 | - / 1 ml ×6 |



PCR体系(以50 μ l 反应体系为例)

| Component | Volume | Final Concentration |
|---|-------------|---------------------|
| Template | Variable | as required |
| Forward Primer (10 μ M) | 1-2 μ l | 0.2-0.4 μ M |
| Reverse Primer (10 μ M) | 1-2 μ l | 0.2-0.4 μ M |
| 5 \times TransStart [®] FastPfu Fly Buffer | 10 μ l | 1 \times |
| 2.5 mM dNTPs | 5 μ l | 0.25 mM |
| TransStart [®] FastPfu Fly DNA Polymerase | 1 μ l | 2.5 units |
| ddH ₂ O | Variable | - |
| Total volume | 50 μ l | - |

优化的参数(50 μ l 反应体系)

| Parameter | Targets \leq 10 kb | Targets \geq 10 kb | cDNA Targets |
|-------------------|---|------------------------|-----------------------------------|
| Template | 100 ng Genomic DNA | 200-500 ng Genomic DNA | 1-2 μ l cDNA from RT reaction |
| | 5-30 ng Plasmid DNA | 5-30 ng Plasmid DNA | (50-500 ng starting RNA template) |
| MgSO ₄ | For targets >5 kb, add 50 mM MgSO ₄ (1-2 μ l) to a final concentration of 3-4 mM | | |

PCR循环

| Number of cycles | Temperature | Plasmid or Genomic DNA | cDNA |
|-------------------------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 cycle | 95 $^{\circ}$ C | 2 min | 2 min |
| Plasmid or Genomic DNA:30-35 cycles | 95 $^{\circ}$ C | 20 sec | 20 sec |
| | Tm-5 $^{\circ}$ C | 20 sec | 20 sec |
| cDNA:40 cycles | 72 $^{\circ}$ C | 6 kb/min for targets \leq 2 kb | 6 kb/min for targets \leq 6 kb |
| | | 2-4 kb/min for targets >2 kb | 2-4 kb/min for targets >6 kb |
| 1 cycle | 72 $^{\circ}$ C | 5 min | 5 min |

PCR Stimulant

PCR Stimulant用于优化复杂模板或高GC/AT模板的扩增。对Pfu系列酶扩增增强显著。储存液浓度为5 \times ，工作浓度可以在0.5 \times - 2.5 \times 之间调节。

注意事项

- 对于高GC模板，推荐变性温度为98 $^{\circ}$ C。
- 为了保证保真性，建议使用高质量的dNTPs。不能使用含有dUTP的dNTPs。
- 建议最后一步加TransStart[®] FastPfu Fly DNA Polymerase到反应体系中。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

服务投诉电话 0086-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

