

## TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AP231

保存: -20°C保存两年。

浓度: 2.5 units/μl

### 产品说明

TransStart® FastPfu Fly DNA Polymerase是用于快速PCR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), 扩增效率更强, 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。
- 高扩增效率。
- 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 <sub>4</sub>	200 μl ×1	400 μl ×1	1 ml ×1
6×DNA Loading Buffer	500 μl ×1	1 ml ×1	1 ml ×2
2.5 mM dNTPs	- / 500 μl ×1	- / 1 ml ×1	- / 1 ml ×6
产品附赠	200 μl ×1	400 μl ×1	1 ml ×1
PCR Stimulant			



**推荐PCR体系与条件** (以50  $\mu$ l 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
5 $\times$ TransStart <sup>®</sup> FastPfu Fly Buffer	10 $\mu$ l	1 $\times$
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l	0.2 mM
TransStart <sup>®</sup> FastPfu Fly DNA Polymerase	1 $\mu$ l	2.5 units
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 $\mu$ l	-

**优化的参数** (50  $\mu$ l 反应体系)

Parameter	Targets $\leq$ 10 kb	Targets $\geq$ 10 kb	cDNA
Template	100 ng Genomic DNA	200-500 ng Genomic DNA	1-2 $\mu$ l cDNA from RT reaction
	5-30 ng Plasmid DNA	5-30 ng Plasmid DNA	(50-500 ng RNA for RT reaction)
MgSO <sub>4</sub>	Add extra 1-2 $\mu$ l of 50 mM MgSO <sub>4</sub> to a final concentration of 3-4 mM if the amplified product is larger than 5 kb		

**PCR**

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
	T <sub>m</sub> -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
1 cycle		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<sup>®</sup> FastPfu Fly DNA Polymerase到反应体系中。
- 5 $\times$ TransStart<sup>®</sup> FastPfu Fly Buffer化冻后如有少量沉淀，请37 $^{\circ}$ C水浴加热溶解后混匀使用。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

