

TransStart® FastPfu DNA Polymerase

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AP 221

保存: -20°C保存两年。

浓度: 2.5 units/μl

产品说明

TransStart® FastPfu DNA Polymerase 是用于快速PCR扩增的高保真DNA聚合酶, TransStart® FastPfu DNA Polymerase扩增能力强、扩增速度快(2-4 kb/min, 是普通Pfu酶的4-8倍), 克服了普通Pfu酶扩增能力差、产量低和扩增速度慢(0.5 kb/min)的缺陷, 极大地缩短了反应时间。

- 保真性是EasyTaq® DNA Polymerase的54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片段的扩增(≤ 20 kb)。

特点

- 热启动, 高特异性。
- 高扩增效率。
- 快速、高保真。

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	AP221-01/11	AP221-02/12	AP221-03/13
TransStart® FastPfu DNA Polymerase	250 U×1	500 U×1	500 U×6
5×TransStart® FastPfu Buffer	1.2 ml×1	1.2 ml ×2	1.2 ml ×12
2.5 mM dNTPs	-/ 500 μl×1	-/ 1 ml ×1	-/ 1 ml ×6
6×DNA Loading Buffer	500 μl×1	1 ml ×1	1 ml ×2
50 mM MgSO ₄	200 μl×1	400 μl×1	1 ml ×1
产品附赠	200 μl×1	400 μl×1	1 ml ×1
PCR Stimulant			

酶贮存缓冲液

50 mM Tris-HCl pH 8.2, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, Stabilizers, 50% glycerol.

5×TransStart® FastPfu Buffer (含Mg²⁺)

100 mM Tris-SO₄ (pH 9.2), 200 mM KCl, 50 mM (NH₄)₂SO₄, 10 mM MgSO₄, 10% Glycerol, 其它。



推荐PCR体系与条件(以50 µl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 µM)	1 µl	0.2 µM
Reverse Primer (10 µM)	1 µl	0.2 µM
5× <i>TransStart</i> [®] <i>FastPfu</i> Buffer	10 µl	1×
2.5 mM dNTPs	4 µl	0.2 mM
<i>TransStart</i> [®] <i>FastPfu</i> DNA Polymerase	1 µl	2.5 units
ddH ₂ O	Variable	-
Total volume	50 µl	-

优化的参数(50 µl 反应体系)

Parameter	Targets ≤10 kb	Targets ≥10 kb	cDNA
Template	100 ng Genomic DNA	200-500 ng Genomic DNA	1-2 µl cDNA from RT reaction
	5-30 ng Plasmid DNA	5-30 ng Plasmid DNA	(50-500 ng RNA for RT reaction)
MgSO ₄	Add extra 1-2 µl of 50 mM MgSO ₄ 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°C	2 min	1 min
Plasmid or Genomic DNA:30-35 cycles cDNA:40 cycles	95°C	20 sec	20 sec
	Tm-5°C	20 sec	20 sec
	72°C	4 kb/min for targets ≤1 kb 2-4 kb/min for targets >1 kb	2 kb/min
1 cycle	72°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×，工作浓度可以在0.5× - 2.5×之间调节。

注意事项

- 对于高GC模板，推荐变性温度为98°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* DNA Polymerase到反应体系中。
- 5×*TransStart*[®] *FastPfu* Buffer化冻后如有少量沉淀，请37°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

