

工
具
酶
系
列

CAT#:130429-100
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

Phusion DNA 聚合酶

Phusion DNA Polymerase

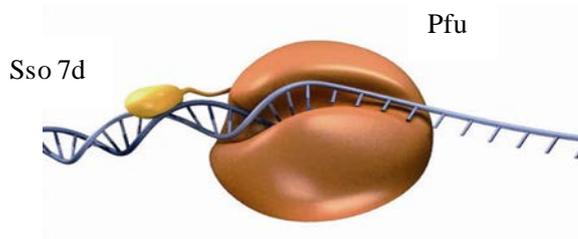
使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

本产品是 Phusion DNA Polymerase 基因经过原核表达, 并经多次纯化分离得到。该酶是由高保真 Pfu DNA 聚合酶和独特的双链 DNA 结合蛋白 Sso7d 融合而成, 其结构示意图如下:



本产品具有下列特点:

1. 极强的 DNA 持续合成能力, 合成 DNA 能力分别是 Pfu DNA 聚合酶和 Taq DNA 聚合酶的 10 倍和 2 倍。
2. 快速, 相比常用的 DNA 聚合酶, 合成时间大大缩短, 延伸速率为 15-30s/kb。
3. 可以短时间内高效、高保真扩增长片段 DNA, 最长可以扩增 20Kb。
4. 具有 5' -3' 和 3' -5' 核酸外切酶活性, 是目前保真度最高的热稳定性聚合酶, 保真性是 Taq DNA 聚合酶的 50 倍, Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。
5. Phusion DNA 聚合酶扩增的 PCR 产物为钝端双链 DNA, 不能直接用于 AT 克隆。

规格及成分

成分	编号	100 U 包装
Phusion DNA Polymerase, 2 U/ μ L	130429A	50 μ L
5 \times Phusion HF Buffer	130429B	2 x 1.5 mL
5 \times Phusion GC Buffer	130429C	1.5 mL
50 mM MgCl ₂ Solution	130429D	1.5 mL
5 \times PCR Enhancer	130429E	500 μ L
使用手册		1 份

运输及保存

低温运输, -20 $^{\circ}$ C 保存, 有效期一年。

自备试剂

DNA 模板、引物、dNTP、超纯水等

使用方法

1. 设置 PCR 反应 (以 50 μ L 的 PCR 反应体系为例):

在一干净的 PCR 管中, 依次加入下列成分:

5 \times Phusion HF Buffer	10 μ L
DNA 模板(自备)	<250 ng
dNTP (2 mM each) (自备)	5 μ L

PCR 引物(自备)	10 pmol each
5× PCR Enhancer (选择添加)	1.5 μL
Phusion DNA Polymerase	0.5 μL
补超纯水到	50 μL

注：1. 如果反应体系不是 50 μL，各成分需按等比例增加或减少，也可根据 PCR 特点自行调节 Phusion DNA Polymerase、模板和引物的用量，进行体系优化。

2. 对于扩增困难或序列较长的模板（如富含 GC 的或具有复制二级结构的），可用 5× Phusion GC Buffer 代替 5× Phusion HF Buffer 来进行 PCR 反应。

3. 请最后将 Phusion DNA Polymerase 加入到反应体系内，防止该酶具有的外切酶活性降解引物。

4. 5× Phusion HF Buffer 中已含有 1.5 mM MgCl₂。如有需要，可根据 PCR 反应特点额外添加 MgCl₂。

5. 对于 GC 含量较高的模板，可选择性加入 5× PCR Enhancer。

2. PCR 反应参数：

过程	温度	时间
预变性	98℃	30 s-3 min
PCR 反应 (25-35 个循环)	98℃	5-10 s
	45-72℃	10-30 s
	72℃	15-30 s/kb
最后延伸	72℃	5-10 min

3. 反应结束后取 5-10 μL 反应产物，琼脂糖凝胶电泳分析。

关联产品

Pfu DNA 聚合酶 (CAT#:51207)