

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#: 90708-1.5  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

**即用型高保真 PCR 试剂盒**  
**Instant HiFi PCR Kit**

**使用手册 V1.2**

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](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是即用型的 2×高保真 PCR 预配反应液，含有除引物、模板以外的所有 PCR 试剂，包括 Pfu DNA 聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 增强剂、上样染料等，特别适合于高保真 PCR 反应。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pfu DNA 聚合酶是使用最广泛的高保真酶，其保真度为普通 Taq 酶的 10 倍。</li> <li>2. 使用时只需在加入模板和引物并稀释到 1 倍浓度即可进行 PCR 反应，非常方便，简化了 PCR 的准备工作。</li> <li>3. PCR 反应所必需试剂全集于一管之中，数分钟即可完成反应体系配置。由于加样过程少，有利于减少污染，降低实验误差。</li> <li>4. 本产品含电泳染料，PCR 反应液可直接上样电泳，进一步简化了操作。</li> <li>5. 由于各成分的浓度和比例都经过精心优化，反应的灵敏度高，特异性强。</li> <li>6. 适用于基因的高保真扩增和基因定点突变等实验，得到的 PCR 产物可用于平末端克隆。</li> </ol>																	
<p><b>规格及成分</b></p>		<p><b>成份</b></p>	<p><b>编号</b></p>	<p><b>塑料袋包装</b></p>														
		<p>2×高保真 PCR MagicMix</p>	<p>90708a</p>	<p>1.5 mL (黄盖)</p>														
		<p>使用手册</p>	<p>90708sc</p>	<p>1 份</p>														
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输，-20℃保存，保存期限为 12 个月。</p>																	
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>模板和引物。</p>																	
<p><b>使用方法</b></p>	<p>将本产品与用户自备的模板，引物混合液按下列推荐使用量（30 uL 反应体系）加入 PCR 管中即可进行 PCR，反应结束后直接取 5-15 uL 电泳检查扩增结果。如果反应体系不是 30 uL，各成分需要按比例增加或减少。</p> <table border="1" data-bbox="592 1568 1359 2007"> <tr> <td>2×高保真 PCR MagicMix</td> <td>15 uL</td> </tr> <tr> <td>DNA 模板(自备)</td> <td></td> </tr> <tr> <td>哺乳动物基因组 DNA</td> <td>0.5-1 ug</td> </tr> <tr> <td>酵母基因组 DNA</td> <td>5-500 ng</td> </tr> <tr> <td>细菌基因组 DNA</td> <td>0.5-50 ng</td> </tr> <tr> <td>质粒 DNA</td> <td>5-500 pg</td> </tr> <tr> <td>PCR 回收片段</td> <td>1-100 pg</td> </tr> </table>				2×高保真 PCR MagicMix	15 uL	DNA 模板(自备)		哺乳动物基因组 DNA	0.5-1 ug	酵母基因组 DNA	5-500 ng	细菌基因组 DNA	0.5-50 ng	质粒 DNA	5-500 pg	PCR 回收片段	1-100 pg
2×高保真 PCR MagicMix	15 uL																	
DNA 模板(自备)																		
哺乳动物基因组 DNA	0.5-1 ug																	
酵母基因组 DNA	5-500 ng																	
细菌基因组 DNA	0.5-50 ng																	
质粒 DNA	5-500 pg																	
PCR 回收片段	1-100 pg																	

PCR 引物(自备)	10-20 pmol each
补水到	30 uL

放入 PCR 仪中进行 PCR。由于含有电泳示踪剂 (注意: 不是溴化乙锭等 DNA 染料), 故 PCR 结束后可以取 5-10 uL 直接上样电泳, 红色染料电泳速度相当于 50 bp DNA 片段。

参考扩增条件:

预变性	94°C	4 min
PCR (30 个循环)	94°C	30 s
	50°C	30 s
	68°C	0.5kb/ min
延伸	68°C	10 min

注意:

1. 本产品的 Pfu DNA 聚合酶比 Taq DNA 聚合酶的延伸反应速率低, 因此我们推荐的扩增延伸反应时间为每 kb 需 2 分钟。
2. Pfu 酶 3' -5' 外切酶活性可降解引物, 所以强烈建议在冰上配置完成 PCR 反应液后, 立即放入 PCR 仪中进行扩增, 扩增完毕后立即进行电泳检测。
3. 本产品扩增产物为平末端, 不可以直接进行 TA 克隆, 可以使用克必隆 B 载体(CAT#:51104)进行克隆。如需要进行 TA 克隆, 建议对 PCR 产物纯化后, 用加 A 试剂盒(CAT#:60105)加 A 后再进行 TA 克隆。
4. 由于 Pfu 无 5' 到 3' 外切酶的活性, 所以本试剂盒不能用于实时荧光 PCR 。

### 疑难解答

Q: 为何 Pfu DNA Polymerase 扩增效率不如 Taq DNA Polymerase?

A: 一是由于 Pfu DNA Polymerase 具有 3' -5' 的外切活性, 所以在合成过程中, 该酶会随时校对新添加的核苷酸是否配对, 影响了合成效率; 二是它能够通过 3' -5' 的外切活性使引物部分降解, 降低引物结合模板的能力, 进而影响扩增效率。三是上面提到的尿嘧啶抑制作用。

Q: 使用本产品时还有哪些注意事项?

A: 1.引物长度和浓度一般应比常规的 PCR 长和高(考虑到被 Pfu DNA Polymerase 的 3' -5' 的外切活性降解的因素);2.最好在反应前加 Pfu DNA Polymerase。

## 相关资料

### 常见耐热 DNA 聚合酶的保真性

	DNA 聚合酶名称	错配率 ( $\times 10^{-6}$ )	精确度 (1/错配率)
单成分酶	Pfu Ultra	$0.4 \pm 0.04$	2,500,000
	Pfu, PfuTurbo	$1.3 \pm 0.2$	770,000
	Tgo	$2.2 \pm 0.1$	450,000
	Deep Vent	$2.7 \pm 0.2$	370,000
	Vent	$2.8 \pm 0.9$	360,000
	Platinum Pfx	$3.5 \pm 1.0$	290,000
	Taq	$8.0 \pm 3.9$	125,000
酶混合物	Herculase	$2.8 \pm 0.5$	360,000
	TaqPlus Precision	$4.0 \pm 1.3$	250,000
	Platinum Taq High Fidelity	$5.8 \pm 0.3$	170,000
	Fidelity Advantage HF	$6.1 \pm 0.07$	160,000

注: Pfu Ultra和Pfu, PfuTurbo都是来源于Pyrococcus furiosus, 各文献中报道的数据间可能有差异, 这跟实验体系的不同有关。

## 关联产品

PCR抑制物清除剂 (CAT#:60804)