

2 × F8 FastLong PCR MasterMix



Keep 武汉科尔普生物科技有限公司

地址：武汉市新技术开发区高新大道 666 号 2 栋

电话：15572895186（微信同号）

网址：www.keepbio.cn 技术 QQ：781634607

使用说明书

包装量：

PC8002

5 ml(含染料)

目录编号	包装单位
PC8001	1 ml(含染料)

组成	PC8001	PC8002
2 × F8 FastLong PCR MasterMix	1ml	5 ml

储存： -20 °C 保存 2 年。短时间（1 个月内）使用可以置 4 °C。

制品说明：

本产品包含 F8 FastLong DNA Polymerase、dNTPs 和优化的反应缓冲液，浓度为 2×。使用时只需加入模板、引物，并补足水至 Mix 终浓度为 1×即可。本产品含红色示踪染料，不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳；也可经过纯化处理，以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。PCR 产物 3' 端带 A 头，可直接用艾德莱 pTOPO TA 系列载体（货号 CV14、CV15）克隆。

产品特点：

1. 超快的扩增速度：延伸速度可以达到 5-10 秒/kb，最短半小时完成 PCR。
2. 突出的长片段扩增能力：可以扩增高达 10 kb 的长片段（包括人类基因组此类的复杂模板）。
3. 良好保真性：保真度是 *taq* 的 3-6 倍以上。
4. 强大扩增能力：产量高，对于一些有特殊结构的复杂模板和 GC 含量高模板有良好效果。

建议 PCR 体系设置：

Component	25 μ l Reaction	50 μ l Reaction	Final Concentration
2× F8 PCR MasterMix	12.5 μ l	25 μ l	1 ×
Forward Primer(10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	0.2 μ M
Reverse Primer(10 μ M)	0.5 μ l	1 μ l	0.2 μ M
Template DNA	as required	as required	
ddH ₂ O	up to 25 μ l	up to 50 μ l	

参考模板用量（50 μ l 反应体系）：

质粒：0.1-10ng；细菌基因组：10-100ng；人类基因组：50-150ng；cDNA：1-5 μ l from RT reaction。

建议 PCR 循环条件：

Step	Temperature	Time	Cycle Number
Initial denaturation	94°C	2-3 minutes	25-35 cycles
Denaturation	94°C	10 seconds	
Annealing	55°C	10-15 seconds	
Extension	72°C	10 seconds / kb	
Final Extension	72°C	1-5 minutes	
	4-8°C	Hold	

注意事项:

1. F8 扩增速度极快，短片段或者简单模板如质粒模板可以尝试 5 秒/kb 延伸速度并采用较少循环数以进一步缩短 PCR 时间。长片段($\geq 3\text{kb}$)或者复杂模板产量较低可以采用 15-20 秒/kb 延伸速度或者采用较多循环数。
2. F8 产量较低时可尝试采用较长的延伸时间(如 20 秒/kb)和循环数(如 35 个)可以提高 PCR 产物的产量。
3. 对于 GC 含量很高的模板，短片段预变性和变性温度可以提高到 98°C和/或适当延长变性时间。长片段为了避免 DNA 损伤不应该提高变性温度，应该适当延长预变性时间到 5 分钟，变性时间可以适当提高 5-10 秒。
4. 如果扩增模板 GC 含量高或者模板复杂扩增效果不佳时，可在反应混合物中加入 DMSO 到终浓度 1%-8%，按照 1%梯度增加摸索最佳浓度。或者加入甜菜碱至终浓度 1.0-1.7 M。并采用降落 PCR (Touchdown PCR)

每一批 2 × F8 PCR Mix 出货前必须通过下面的 2 种大小片段的扩增检测:

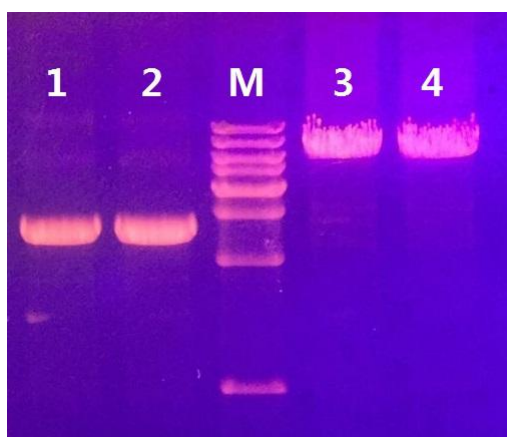


Figure.1. Amplification of DNA fragment from 50 ng human genomic DNA in 50 μl reaction mixture. Lane M: 1kb ladder; Lane 1-2: H α 1AT, 2.6Kb, extension 10 sec/kb; Lane3-4: β -globin, 6kb, extension 15 sec/kb.