



# FastPrime DNA Polymerase

目录号: F665641 (500 U)

F665641 (2500 U)

保存条件: -20°C

## 产品内容

Component	500 U	F665641
FastPrime DNA Polymerase, 5 U/μl	100 μl	5×100 μl
10×PCR Buffer	1.8 ml	5×1.8 ml

注意: 本产品的 10×PCR Buffer 中含有 15 mM 镁离子。

## 产品简介

FastPrime DNA Polymerase 是抗 Taq 酶单克隆抗体和具有高效扩增及保真性能的 Taq DNA Polymerase 的混合制品, 适用于 HOT Start PCR。使用 FastPrime DNA Polymerase 进行 PCR 扩增时, 高温变性前由于 Taq 酶抗体与 Taq 酶结合抑制 DNA 聚合酶活性, 能够在低温条件下有效抑制引物的非特异性退火及引物二聚体引起的非特异性扩增。Taq 酶抗体在 PCR 反应最初的 DNA 变性步骤中变性, DNA 聚合酶活性恢复, 达到热启动效果。使用本品无需特殊的对 Taq 酶抗体失活处理, 可以在常规 PCR 反应条件下使用。

FastPrime DNA Polymerase 具有 5'→3' DNA 聚合酶活性、5'→3' 外切酶和 3'→5' 外切酶活性。与 Taq DNA Polymerase 相比, FastPrime DNA Polymerase 具有扩增效率高、错配率低的优良性能, 能高效率扩增 DNA 片段。使用本品扩增得到的 PCR 产物 3' 端附有一个“A”碱基, 可直接用于 T/A 克隆。本产品适用于常规 PCR 反应和对高保真性有要求的基因克隆等反应。

## 活性定义

用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 74°C, 30 分钟内, 将 10 nmol 脱氧核糖核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

## 质量控制

经过多次柱纯化, SDS-PAGE 检测其纯度大于 99%; 经检测无外源核酸酶活性; PCR 方法

上海阿拉丁生化科技股份有限公司

电话: 400-620-6333

检测无宿主残余 DNA；能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因。

## 使用方法

以下举例为以人基因组 DNA 为模板，扩增 1 kb 的片段的 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

### 1. PCR 反应体系

试剂	50 $\mu$ l 反应体系	终浓度
10 $\times$ PCR Buffer	5 $\mu$ l	1 $\times$
dNTP Mix, 10 mM each	1 $\mu$ l	200 $\mu$ M each
Forward Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
Template DNA	<0.5 $\mu$ g	<0.5 $\mu$ g/50 $\mu$ l
FastPrime DNA Polymerase, 5U/ $\mu$ l	0.25-0.5 $\mu$ l	1.25-2.5 U/50 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l	

注意：引物浓度请以终浓度 0.1-1.0  $\mu$ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

### 2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	95 $^{\circ}$ C	2 min	
变性	95 $^{\circ}$ C	30 s	25-35 个循环
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s	25-35 个循环
延伸	72 $^{\circ}$ C	30 s	25-35 个循环
终延伸	72 $^{\circ}$ C	2 min	

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度  $T_m$  低 5 $^{\circ}$ C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，本产品的扩增效率为 2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。