

高保真Pfu 产品处理指南

运输：	干冰/蓝冰
货号：	MDX003
批号：	见瓶身
浓度：	2 U/μL

储存温度：-20°C



储存和稳定性：

高保真Pfu采用干冰/蓝冰运输。到货后储存于-20°C下，以获得最佳稳定性。应避免反复冻融循环。运输过程中解冻不影响产品性能。每次解冻后应混合/平衡溶液以避免分相。

有效期：

在外包装盒标签上的有效期内，在推荐条件下储存并正确处理时，试剂盒可保持完整活性。

安全预防措施：

处理试剂前请阅读并理解SDS（安全数据表）。首次发货时提供SDS的纸质版文件，此后可应要求提供。

质控：

Meridian遵守ISO 13485管理体系运行。高保真Pfu及其组分在活性、持续合成能力、效率、热激活、灵敏度、无核酸酶污染和无核酸污染等方面均经过广泛测试。

注：

仅供科研和进一步生产使用。

产品描述

高保真Pfu是一种高保真PCR产品，含有热启动抗体、单独的10x Pfu反应缓冲液和MgCl₂。高保真Pfu的3'-5'校对对外切核酸酶活性的误差率为3.0×10⁻⁶，可生成长达5 kb的钝性末端扩增子，是NGS文库扩增中提高产量的理想选择。

产品组分

表 1

组分
高保真Pfu
Pfu反应缓冲液，10x
50 mM MgCl ₂ 溶液

使用指南

Pfu反应缓冲液（10x）由600 mM Tris-HCl、60 mM (NH₄)₂SO₄、100 mM KCl和20 mM MgSO₄组成，25°C时pH值为8.3。

Pfu反应缓冲液（1x）中的Mg²⁺浓度为2 mM，这是大多数PCR反应中高保真Pfu的最佳浓度，只有在必要时才需要调整。

正向和反向引物的最终浓度一般各0.2-0.6 mM。以此为起点，我们建议使用0.4 mM的最终浓度（每20 μL反应体积中各引物4 pmol）。

对于结构复杂度较低的DNA模板，如质粒DNA，建议每50 μL反应试剂体积使用50 pg至10 ng DNA。对于真核生物基因组DNA，我们建议每50 μL反应试剂的起始量为200 ng DNA，该量变化范围为5 ng至500 ng。

技术支持

如有任何技术问题，请发送电子邮件联系我们的技术支持团队：

mbi.tech@meridianlifescience.com。

PCR反应设置

制备高保真Pfu和检测特异性引物构成的预混液（见表2中的推荐成分）。

表 2

试剂	体积	最终浓度
Pfu反应缓冲液，10x	2 μL	1x
模板	按要求	按要求
20 μM正向引物	0.4 μL	400 nM
20 μM反向引物	0.4 μL	400 nM
快速高保真Pfu	0.4 μL	0.05 U/μL
水（ddH ₂ O）	≤ 20 μL	

PCR扩增

表3中的PCR条件适用于长达1 kb的扩增子。

表 3

步骤	温度	时间	循环
初始变性	95°C	3 min	1
变性	95°C	15 s	25-35
退火	用户确定	15 s	
延伸	72°C	1.5 - 30 sec/kb	
最终延伸 （可选）	72°C	4 - 10 min	1

对于多重PCR，我们建议使用55°C作为起始退火温度。如需进一步优化，我们建议使用温度梯度来确定多重PCR所需的最佳退火温度。由于多重PCR通常通常需要较长的延伸步骤，因此建议起始时间至少为90秒，必要时再延长。