



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)

产品编号	产品名称	包装
D7250-1ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	100 次
D7250-5ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	500 次

产品简介:

- BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)是一种使用了高保真、扩增速度可以达到15秒/kb的BeyoFusion™ DNA Polymerase的高保真PCR扩增用的2X预混液。本产品中含有2X BeyoFusion™ DNA Polymerase, 2X BeyoFusion™ Buffer (with Mg²⁺), 2X dNTP, 只需加入适量引物、模板和水即可进行高保真PCR扩增。大大简化了PCR操作, 使操作更加快捷, 也减少了PCR操作过程中可能导致的污染, 使PCR的重复性更好。
- 利用BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)可以进行各种常规的PCR扩增, 特别适合用于高保真和快速的定性和半定量的PCR扩增, 以及长片段DNA(长度最长可以超过12kb的)的基因扩增和克隆。
- 扩增速度极快, 扩增小于6kb的DNA片段时, 延伸1kb只需要15秒。普通的DNA聚合酶延伸1kb通常需要1-2分钟。BeyoFusion™ DNA polymerase由于其超快的扩增速度, 可以显著缩短PCR扩增所需的时间。
- BeyoFusion™ DNA Polymerase是一种高保真DNA聚合酶, 不仅可以非常高效地催化5'至3'方向的依赖于DNA模板的脱氧核苷酸的聚合反应, 它同时还具有3'至5'的外切酶活性(proofreading activity), 它的错误发生概率比Taq酶要低52倍, 比pfu酶要约低6倍。
- BeyoFusion™ DNA Polymerase的扩增长度长, 可以达到12kb。BeyoFusion™ DNA Polymerase非常适合长片段DNA的扩增, 扩增出来的片段可以轻松达到12kb, 更长片段的扩增效果未经测试。BeyoFusion™ DNA聚合酶可以轻松胜任具有复杂二级结构的、非常长的DNA片段的准确扩增, 因此它是目的基因扩增和克隆的理想选择。
- 本产品稳定性高, 经测试, 反复冻融15次后对PCR的扩增效果无显著影响。
- 每毫升的本产品用于50微升的PCR反应体系, 足够用于40个反应; 用于20微升的PCR反应体系, 足够用于100个反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7250-1ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	1ml
D7250-5ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	1ml×5
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。适当避免反复冻融。如需频繁使用, 可取适量存放于4°C, 至少3天内有效。

注意事项:

- 由于PCR反应非常灵敏可以扩增目的基因序列超过1000万倍, 在使用BeyoFusion™酶时请注意避免微量待扩增DNA的污染, 并尽量考虑设置不加模板的空白对照以确认是否有待扩增DNA的污染。
- 尽管本产品经过15次反复冻融后仍具有和冻融前几乎相同的PCR扩增效果, 但仍宜适当避免反复冻融本产品, 多次反复冻融可能使产品性能下降。
- 使用本产品前, 一定要完全融化, 并上下颠倒轻轻混匀后才能使用, 尽量避免起泡。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. PCR反应体系的设置:

- 融解并混匀PCR反应所需的各种溶液。将BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)置于冰浴上或冰盒内。
- 参考下表在冰浴上设置PCR反应体系:

Component	Final concentration	Volume	Volume
Nuclease-free Water	-	(21-x)μl	(8.4-y)μl
Template DNA	10pg-1μg*	xμl	yμl
Primer Mix (10μM each)	0.8μM	4μl	1.6μl

BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	1X	25µl	10µl
Total	-	50µl	20µl

*对于不同类型的模板在50µl反应体积中推荐用量如下:

哺乳动物基因组DNA: 0.1-1µg; 大肠杆菌基因组DNA: 10-100ng; 质粒DNA: 0.1-10ng。

过多的模板DNA容易导致非特异性的PCR产物。

- c. 用移液器轻轻吹打混匀或轻微Vortex混匀, 室温离心数秒, 使液体积聚于管底。
- d. 如果所使用的PCR仪有热盖则省略本步骤。如果PCR仪没有热盖, 则在管内滴入一滴矿物油(ST275 Mineral oil)。
- e. 把设置好的PCR反应体系置于PCR仪上, 开始PCR反应。

2. PCR反应参数的设置可以参考如下示例:

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial Denaturation	92°C	3min	1
Denaturation	92°C	30sec	30-35
Annealing	55°C	30sec	
Extension	68°C	15-60sec/kb	
Final Extension	68°C	10min	1
Hold	4°C	-	-

注意:

- a. PCR反应的设置需根据模板、引物、PCR产物的长度和GC含量等条件的不同设定不同的PCR反应条件包括温度、时间和循环数等。
- b. 延伸步骤的时间设置需根据PCR产物的长度进行设置, 对于本产品**扩增小于6kb的DNA片段时, 推荐每kb产物的延伸时间为15秒**。例如PCR产物的长度为1kb, 则延伸时间可以设置为15秒, PCR产物的长度为2kb, 则延伸时间可以设置为30秒, 以此类推。**扩增大于6kb的DNA片段时, 推荐每kb产物的延伸时间为1分钟**。例如PCR产物的长度为10kb, 则延伸时间可以设置为10分钟, PCR产物的长度为12kb, 则延伸时间可以设置为12分钟, 以此类推。
- c. 对于初次进行的PCR, 为尽量确保可以扩增出预期的PCR产物, 可以把循环数设置为35。对于需进行半定量或定量的PCR反应, 循环数一定要进行适当优化, 使PCR反应没有达到平台期。

常见问题:

1. PCR产物非常少或没有特异性条带。
 - a. 引物设计不佳是PCR过程中最常见的问题。请选择适当的引物设计软件进行引物设计, 注意引物的GC含量、二级结构、二聚体、退火温度、长度、特异性等方面的问题。在加入酶切位点等的引物中, 一定要注意加入酶切位点等后整条引物的GC含量、二级结构、二聚体、退火温度、长度、特异性等方面的问题。在原有引物效果不佳的情况并且阳性对照引物可以正常工作的前提下, 可以考虑更换引物。
 - b. 待扩增片段GC含量偏高。GC含量较高的情况下PCR会变得相对比较困难, 此时可以使用适合扩增高GC含量DNA片段的GC-rich buffer, 并相应地根据GC-rich buffer的要求或说明调整PCR反应参数的设置。直接添加1-10% DMSO或5-20%甘油对于扩增高GC含量的片段也有帮助。
 - c. PCR反应设置时在室温进行容易导致非特异性条件。推荐在冰浴上设置PCR反应。
 - d. 由于引物存在一定的二级结构或存在一定的引物二聚体, 或引物偏短, 导致退火效果不佳。此时可以采用Touch down等方法进行退火, 通常采用从65°C逐步缓慢降温到55°C或50°C的方法, 使退火更加充分。
 - e. 退火温度不佳, 需要优化。如果有温度梯度PCR仪, 则可以设置退火的温度梯度, 摸索退火的最佳温度。如果没有温度梯度PCR仪, 则可以通过多次PCR反应摸索最佳的退火温度。
 - f. 延伸时间不足。可以在推荐的延伸时间基础上把延伸时间延长2-5倍, 对于较难扩增的片段可以设置为每1kb延伸5分钟。
 - g. 待扩增片段GC含量较高或长度较长, 变性不够充分。可以调节起始变性条件至95°C 1min甚至95°C 2-4min。
 - h. 在不同PCR仪上进行PCR反应, 避免有时PCR仪出现问题。
 - i. 循环数不足, 适当延长PCR的循环数。通常循环数最高不必超过40, 常用的循环数范围为25-35。
 - j. 模板含量太低, 适当加大模板量, 或采用巢式PCR (nested PCR)或二次PCR。巢式PCR即为在原先设计的PCR引物内侧再设计一对PCR引物, 然后对第一次PCR产物进行稀释后再进行一次PCR扩增, 这样一方面可以起到扩增作用, 同时也可以从第一次PCR产物中扩增出特异性条带。二次PCR则为比较简单地用原有引物对第一次PCR产物进行稀释后再进行一次PCR扩增, 可以起到扩增作用, 但不能去除非特异性条带。
 - k. 模板中含有抑制PCR反应的物质, 可以用适当的DNA纯化方法例如柱纯化等纯化模板DNA。
 - l. 对PCR引物进行脱盐纯化。
 - m. 使用高质量的dNTP混合物。
 - n. 当产生较多非特异性条带时, 可以适当提高退火温度。
 - o. 注意设置适当的阳性对照和阴性对照通常会有很大帮助。
2. 杂带较多或条带弥散。
 - a. 退火温度提高2-5°C。

- b. 减少DNA模板的用量。
- c. PCR反应设置时在室温进行容易产生非特异性条带。推荐在冰浴上设置PCR反应。
- d. 适当缩短延伸时间。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7205	Taq DNA Polymerase	200U
D7207	Taq DNA Polymerase	1000U
D7209	Taq DNA Polymerase	5000U
D7211S	Hot-Start Taq DNA Polymerase	200U
D7211M	Hot-Start Taq DNA Polymerase	1000U
D7211L	Hot-Start Taq DNA Polymerase	5000U
D7216	Pfu DNA Polymerase	200U
D7217	Pfu DNA Polymerase	1000U
D7218	BeyoTaq DNA Polymerase	200U
D7219	BeyoTaq DNA Polymerase	1000U
D7220	BeyoFusion™ DNA Polymerase	200U
D7221	BeyoFusion™ DNA Polymerase	1000U
D7222	BeyoFusion™ Plus DNA Polymerase	200U
D7222B	BeyoFusion™ Plus DNA Polymerase	1000U
D7228	2X PCR Master Mix	400次
D7232	PCR Kit with Taq	400次
D7233	PCR Kit with Taq	2000次
D7237	PCR Kit with BeyoTaq	400次
D7241S	HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)	200次
D7241M	HemoTaq™ DNA Polymerase (Blood-resistant)	1000次
D7243S	HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant)	200次
D7243M	HemoTaq™ HF DNA Polymerase (Blood-resistant)	1000次
D7245	Blood PCR Enhancer (2X)	2ml
D7248S	PlantTaq™ DNA Polymerase (Chlorophyll-resistant)	200次
D7248M	PlantTaq™ DNA Polymerase (Chlorophyll-resistant)	1000次
D7250-1ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	100次
D7250-5ml	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	500次
D7251	Easy-Load™ PCR Master Mix (Blue, 2X)	100/400/2000/10000次
D7255	Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X)	100/400/2000/10000次
D7259	Easy-Load™ PCR Master Mix (Orange, 2X)	100/400/2000/10000次
D7281S	动物组织直接PCR试剂盒	100次
D7281M	动物组织直接PCR试剂盒	500次
D7283S	鼠尾基因型快速鉴定试剂盒	100次
D7283M	鼠尾基因型快速鉴定试剂盒	500次
D7285S	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (2X)	100次
D7285M	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (2X)	500次
D7287S	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (HF, 2X)	100次
D7287M	Easy-Load™ Blood Direct PCR Master Mix (HF, 2X)	500次
D7289S	Easy-Load™ Plant Direct PCR Master Mix (2X)	100次
D7289M	Easy-Load™ Plant Direct PCR Master Mix (2X)	500次
D7371	dNTP Mixture(2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture(25mM each)	250µl
FTUB322	BeyoGold™ PCR管(0.2ml, 凸盖, 透明)	1000个/包
FTUB323	BeyoGold™ PCR管(0.2ml, 凸盖, 透明)	1000个/包,10包/箱
FTUB328	BeyoGold™ PCR八联排管(0.2ml, 凸盖, 透明)	125排/盒

FTUB329	BeyoGold™ PCR八联排管(0.2ml, 凸盖, 透明)	125排/盒,10盒/箱
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml/500ml

Version 2020.05.19