

FS™ Kit

货号: P3072

产品简介

FS™ Kit 由 FS™ Reaction Mix(含有 dNTP 混合物、缓冲液等)和单独保存的 FS™ Taq DNA 聚合酶组成。使用时, 仅需将反应缓冲液与 FS™ Taq DNA 聚合酶按比例混合后, 在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR。大大简化操作过程, 缩短操作时间, 降低污染(加样次数减少)。使用东盛生物研发的 FS™ Taq DNA 聚合酶, 能够显著提升扩增效率, 缩短扩增时间。

FS™ Taq DNA 聚合酶是根据蛋白工程原理, 以 Taq DNA 聚合酶为基础, 研发设计的新一代 DNA 聚合酶。本产品具有类似 KOD 酶的快速扩增能力, 延伸速度为 20s/kb (70~75℃, 简单模板可达 5s/kb)。是普通 Taq DNA 聚合酶的 3 倍, 可缩短一半以上的扩增时间; 同时具备 Taq DNA 聚合酶扩增效率高、适应性广等优点。FS™ Taq DNA 聚合酶使用方法与普通 Taq DNA 聚合酶基本相同, 只需注意适当缩短延伸时间。该酶具有 5'→3'聚合酶活性, 无 3'→5'外切酶活性。扩增产物具有 3'-dA 突出端, 可直接用于 TA 克隆。

产品组成

Component	P3072
2× FS™ Reaction Mix	1 ml×5
FS™ Taq DNA 聚合酶 (2.5U/μl)	160 μl

本产品分含体系中包含溴酚蓝、不含溴酚蓝两类。体系中包含溴酚蓝的产品, PCR 扩增产物可直接电泳检测。这两类产品的扩增性能无差异。如没特别说明提供体系中包含溴酚蓝的包装。

活性定义

一个活性单位 (U) 指用活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板/引物, 在 72℃、30 min 内, 摄入 10 nmol 全核苷酸所需的酶量。

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增人基因组中的单拷贝基因。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 μl reaction volume)	Final concentration (50 μl reaction volume)
1	2× FS™ Reaction Mix	25 μl	1×
2	upstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
3	downstream primer (10 μM) ^[1]	2 μl	0.4 μM
4	FS™ Taq DNA 聚合酶 (2.5U/μl) ^[2]	0.5-1 μl	1.25U-2.5U
5	template DNA ^[3]	1-4 μl	<1μg
6	超纯水 ^[4]	To 50 μl	-
optional	MgCl ₂ (MgSO ₄)/PCR Enhancer ^[5]	Variable	-

[1] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 μM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[2] 根据目的片段扩增的难易程度调整 DNA 聚合酶的用量。

[3] 不同模板最佳用量不同, 部分 DNA 模板建议用量如下表 (50 μl 反应体系)。

Template	人类基因组 DNA	λDNA	大肠杆菌基因组 DNA	质粒 DNA
Dosage	0.1μg-1μg	0.5ng-5ng	10ng-100ng	0.1ng-10ng

[4] 可单独订购超纯水 (Cat. #: P9021/P9022/P9023)。

[5] 可单独订购 25mM MgCl₂ (Cat. #: P9031) 和 PCR Enhancer (Cat. #: P9041)。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	94℃	3 min	1

Denaturation	94°C	30 sec	25-35
Annealing	55-68°C ^[1]	30 sec	
Extension	72°C	Variable ^[2]	
Final Extension	72°C	5-10 min	1

[1] 退火温度应根据 Tm 值较低的引物来设。

[2] 延伸时间按 20s/kb 来设最佳（简单模板可达 10s/kb）。

3. 分析结果

反应产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，通过凝胶成像设备观察目的条带的扩增情况。如有需要，可进行割胶回收。

无产物或产物量少的改进措施有：1 调整退火温度；2 减少抑制剂的影响，如提取的基因组 DNA 中含有抑制扩增的成分，需要高倍稀释（1: 10000）后使用；3 采用乙醇沉降洗脱，提高模板 DNA 的纯度；4 使用 PCR 添加剂，如 PCR Enhancer（Cat. #: P9041）、MgCl₂（Cat. #: P9031）等可提高产量。

操作注意事项

室温下 FS™ Taq DNA 聚合酶有一定的活性，为避免发生非特异性扩增，请于冰上配置反应体系，并且最后添加 FS™ Taq DNA 聚合酶或模板 DNA。

引物设计注意事项

引物长度一般在 15-30 个碱基之间；上下游引物 3'末端避免互补，避免出现 3 个以上重复的 G 或 C，或出现发夹结构，否则会产生非特异性扩增；GC 含量控制在 40-60%，且上下游引物 GC 含量尽量接近；Tm 值控制在 55-65°C 之间，且上下游引物 Tm 值尽量接近，额外附加序列（酶切位点、修饰等）是非模板匹配序列，不参与 Tm 值计算。

本品仅供科学研究使用。