

Phusion100 High Fidelity DNA Polymerase Master Mix(2X) 使用说明

一. 总体实验要求

- 在使用本试剂之前，请将其充分涡旋混匀。
- 每个样本推荐进行四次重复
- 建议设置无模板对照（NTC）。NTC 中包括除模板以外的所有 qPCR 反应成分（包含 Master Mix，引物，ddH₂O），NTC 理论上应该没有扩增。
- 如果要减小反应体系，请将各组分按比例缩减。不推荐小于 10 μ l 的反应体系。
- 本产品为高保真扩增预混液，提供相对于 Taq 酶高达 100 倍的保真度。

二. 配制反应体系

1. 按照下表配制 PCR 反应体系（注：配制多个反应孔时，请为各组分预留 10% 的余量，以免移液损失。）

组成成分	50 μ l 体系	100 μ l 体系
Phusion100 High Fidelity DNA Polymerase Master Mix(2X)	25 μ l	50 μ l
正向引物和反向引物 ^[1]	—	—
cDNA 模板和 ddH ₂ O ^[2]	—	—
总体积	50 μ l	100 μ l

^[1]建议正、反向引物的终浓度各为 300-800 nM

^[2]建议每个反应孔使用 1-10 ng cDNA 或 10-100 ng gDNA

2. 反应体系配好后，盖上反应盖，充分涡旋混匀，离心。
3. 将反应液分装到每个反应孔中。封上贴膜，离心，避免产生气泡。

三. 运行 PCR 反应程序

1. 将反应板放在 PCR 仪上，根据需要选择快速或标准 PCR 反应程序，并按照以下表格设置反应参数。（注：如果反应模板是 gDNA，推荐使用标准反应程序。）

反应程序

阶段	温度	时间	循环
预变性	95°C	6分钟	Hold
变性	95°C	30秒	40
退火	55-60°C	30秒	
延伸	68°C	1-3分钟	
延伸	68°C	10分钟	Hold

2. 产物的电泳检测和回收。

