

2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)

(2×高保真酶预混液)

产品信息

货号	名称	规格
NA201-1 ml	2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus) (2×高保真酶预混液)	1 ml
NA201-5×1 ml	2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus) (2×高保真酶预混液)	5×1 ml
NA201-15×1 ml	2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus) (2×高保真酶预混液)	15×1 ml
NA201-50×1 ml	2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus) (2×高保真酶预混液)	50×1 ml

产品简介

2× Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)是一款操作方便的 2×即用型混合液，其含有 Fusion High-Fidelity DNA 聚合酶、dNTPs、反应缓冲液与稳定剂。使用时仅需加入 DNA 模板和引物，大大简化了操作步骤，提高了结果的重现性。本产品含有绿色染料，PCR 产物无需添加上样缓冲液即可直接进行电泳。具有快速简便、高灵敏度、高特异性、高扩增效率等优点。Fusion High-Fidelity DNA 聚合酶具有 5' - 3' DNA 聚合酶活性和 3' - 5' 核酸外切酶活性，其保真性是 Taq DNA 聚合酶的 52 倍，是普通 Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。扩增速度可达 30 sec/kb，扩增产物为平末端，可实现快速 PCR。

储存条件

-20°C保存

产品组成

名称 组分	2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)				储存条件
	NA201-1 ml	NA201-5×1 ml	NA201-15×1 ml	NA201-50×1 ml	
2×Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)	1 ml	5×1 ml	15×1 ml	50×1 ml	-20°C
ddH ₂ O	1 ml	5×1 ml	15×1 ml	50×1 ml	-20°C

使用说明

- 将 2× Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)置于冰上溶解，溶解后上下轻轻颠倒混匀，并短暂离心。
- 将 PCR 管置于冰上，并依次加入下列组分：

2× Ori Fusion Master Mix (Dye Plus)	25 μl
Primer 1(10 μM)	2 μl
Primer 2(10 μM)	2 μl
Template DNA	10 pg - 1 μg ^a
ddH ₂ O	To 50 μl

OriNote: (a) 不同模板最佳反应浓度不同。对于 50 μl 反应体系推荐模板使用量：①质粒与噬菌体 DNA 为 0.01-50 ng；②基因组 DNA 为 5-200 ng。③cDNA 为 1 - 5 μl(不超过 PCR 反应总体积的 1/10)。

- 用移液器轻轻吹打混匀，室温离心数秒，将液体离心至管底。
- 使用下述推荐的热循环条件进行 PCR：

Step	Temperature(°C)	Time	Number of cycles
预变性 ^a	98°C	30 sec	1 cycle
变性	98°C	10 sec	30-35 cycle
退火 ^b	60°C	20 sec	
延伸	72°C	30 sec /kb	
终延伸	72°C	5 min	1 cycle

OriNote: (a) 该预变性条件适合绝大多数扩增反应, 可根据模板结构复杂程度调整。如模板结构复杂, 可将预变性时间延长至 3 min 以提高预变性效果; (b) 退火温度需要根据引物的 T_m 值进行调整, 对于复杂模板, 需要调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

注意事项

1. 使用本产品前, 一定要完全融化, 并上下轻轻颠倒混匀后才能使用, 尽量避免起泡。
2. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。

常见问题及解决方法

Q1: 如果存在非特异性扩增条带, 如何提高特异性?

a. DNA 模板: (1) DNA 起始量过多。可适当降低 DNA 起始量, 减少非特异性 PCR 产物产生。(2) DNA 的降解。通过电泳检查模板完整性及浓度, 必要时重新纯化模板。(3) 模板具有复杂的序列 (如, 高 GC 含量或含二级结构)。调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。

b. 引物: (1) 设计存在问题-特异性。使用在线引物设计工具, 确保引物对目的片段具有特异性。(2) 设计存在问题-引物二聚体。确保引物的 3'末端不含互补序列或连续的 G 或 C 核苷酸, 防止形成引物二聚体。(3) 用量过多。引物浓度过高可能会加剧引物二聚体的形成。

c. 反应程序: (1) 变性不充分。当扩增富含 GC 的模板和具有二级结构的序列时, 可增加变性时间和/或温度, 使 DNA 有效解离。(2) 退火温度过低。如果出现比目的条带小的杂带, 则需升高退火温度, 提高特异性。(3) 退火时间过长。如果出现比目的条带大的杂带, 则需缩短退火时间, 尽量减少引物与非特异性序列的结合。

Q2: 扩增得率低或者无扩增条带, 可能的原因是?

a. DNA 模板: (1) DNA 起始量过少。适当增加起始量。(2) DNA 的降解。通过电泳检查模板完整性及浓度, 必要时重新纯化模板。(3) 模板具有复杂的序列 (如, 高 GC 含量或含二级结构)。调节退火温度和延长延伸时间来实现高效扩增。(4) DNA 纯度低。存在抑制 DNA 聚合酶的物质, 可使用 70%乙醇洗涤 DNA 去除残留盐分等干扰物质。

b. 引物: (1) 设计存在问题-特异性。使用在线引物设计工具, 确保引物对目的片段具有特异性。(2) 设计存在问题-引物二聚体。确保引物的 3'末端不含互补序列或连续的 G 或 C 核苷酸, 防止形成引物二聚体。(3) 用量过少。引物用量范围通常为 0.1–1 μM 。(4) 引物的降解。建议重新合成引物再进行扩增。

c. 反应程序: (1) 变性不充分。当扩增富含 GC 的模板和具有二级结构的序列时, 可增加变性时间或温度, 使 DNA 有效解离。(2) 退火温度不合适, 可对退火温度设置梯度, 从而摸索反应的最佳的退火温度。

d. 其他原因: (1) 反应体系配制时出现错误。建议重复实验。(2) 试剂还未完全融化或未上下颠倒就开始使用。建议待试剂完全融化, 并上下颠倒轻轻混匀后再进行使用。

相关产品

名称	货号	规格
NB101-60 T	Ori Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	60 T
NB101-120 T	Ori Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	120 T
NB101-240 T	Ori Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	240 T
NB401-60 T	Ori Gel Recovery Kit (胶回收试剂盒)	60 T
NB401-120 T	Ori Gel Recovery Kit (胶回收试剂盒)	120 T
NB401-240 T	Ori Gel Recovery Kit (胶回收试剂盒)	240 T
NA101-1 ml	2×Ori Taq Master Mix(Dye Plus) (2×Taq 预混液)	1 ml
NA101-5×1 ml	2×Ori Taq Master Mix(Dye Plus) (2×Taq 预混液)	5 ml
NA101-15×1 ml	2×Ori Taq Master Mix(Dye Plus) (2×Taq 预混液)	15 ml
NA101-50×1 ml	2×Ori Taq Master Mix(Dye Plus) (2×Taq 预混液)	50 ml

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

www.oriscience.com

Tel: 400-158-2128

Emails: order@oriscience.com

technical_support@oriscience.com

