

# Thermo Scientific Phusion DNA 聚合酶

用于强劲、准确、快速PCR扩增的聚合酶

# 升级至高性能PCR的金标准

自2003年问世以来，Thermo Scientific™ Phusion™ 高保真 DNA 聚合酶已经建立起了高性能PCR的金标准。Phusion 产品已经在上千的文献中被引用，已经成为多种应用中聚合酶的第一选择，如全基因组的重建<sup>1</sup>、设计<sup>2</sup>及大规模平行、高通量测序<sup>3</sup>。

在 Phusion 高保真 DNA 聚合酶中，一个 DNA 结合域融合到类热球菌 (*Pyrococcus*) 具有校对功能的聚合酶上。借助这种独特的融合技术，Phusion DNA 聚合酶以一般单酶无法企及的准确率和速度合成 PCR 产物，即使是扩增复杂模板。除此之外，Phusion DNA 聚合酶对多种抑制剂具有耐受性，只需极少的优化步骤便可进行 PCR 的有效扩增。对于热启动 PCR，具有高度特异性和极强聚合能力的 Thermo Scientific™ Phusion™ Hot Start II High-Fidelity DNA 聚合酶是理想的选择。

Phusion DNA 的持续合成能力大约是 *Pfu* DNA 聚合酶的 10 倍以上，是 *Taq* DNA 聚合酶的两倍。极高的持续合成能力使得延伸时间缩短、扩增功能更强劲，可在较短时间内对长片段模板（长达20 kb）进行扩增。相比于传统的校正聚合酶，Phusion DNA 聚合酶用量更少，产量更高。

## 特点

- 高保真度 – 保真度为 *Taq* 酶的52倍，*Pfu* 的6倍
- 功能强劲 – 更高的成功率，更少的优化步骤
- 快速 – 增强的持续合成能力缩短了反应时间（延伸速度 15-30 s/kb）
- 产量高 – 更少的酶，更高的产量（0.5-1 U/50 μL 反应）
- 高特异性 – 独特的热启动技术，实现零时间激活，减少非特异性扩增和引物降解。
- 简化实验流程 – 使用 Phusion Green DNA 聚合酶，PCR 产物可以直接上样凝胶电泳

## 应用

- 高保真 PCR
- 快速 PCR
- 热启动 PCR
- 长片段 PCR (长达 20 kb)
- 高通量 PCR



Thermo Scientific™ Phusion™ 绿色规格产品结合了 Phusion DNA 聚合酶和 5 x Green 反应缓冲液。这种缓冲液含有一种高密度试剂和两种示踪染料，用于 PCR 产物的直接凝胶上样。这种绿色缓冲液不会干扰 Phusion DNA 聚合酶的活性，且与下游实验兼容，包括 DNA 测序、连接和限制性酶切。

了解更多请访问 [thermofisher.com/phusion](http://thermofisher.com/phusion)

## 高保真度

在许多分子生物学实验中，包括克隆、定点突变和 DNA 翻译，保证 PCR 扩增中 DNA 序列的精确性尤为重要。一个错误整合的核苷酸可能改变各自的密码子，在翻译过程中导致错误氨基酸的插入。如此相应的也会影响蛋白质的折叠和功能特性。此外，单个核苷酸的缺失也能破坏正确的阅读框。

Phusion DNA聚合酶在现有的热稳定酶中具有最高的保真性。Phusion DNA聚合酶的错配率是通过一种修正的基于 *lacI* 的方法进行测定的<sup>4</sup>，该酶的错配率比 *Taq* DNA聚合酶的低 50 倍，比 *Pfu* DNA聚合酶的低 6 倍（图 1）

最近已使用 454 测序<sup>5</sup>和 Illumina 测序方法<sup>3</sup>，验证了 Phusion DNA 聚合酶的低错配率（表 1）。

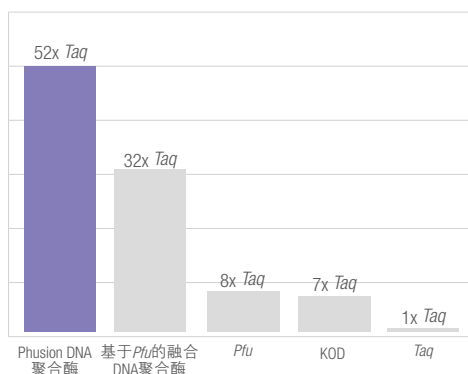


图 1. 不同 DNA 聚合酶的相对保真度。

保真度 = 1 / 错配率。

	KOD (%)	Phusion HF (%)	Pt <i>Taq</i> (%)	Expand HF (%)	FastStart HF (%)	SequalPrep Long (%)	PfuUltra HF (%)
Overall error rate <sup>a</sup>	0.21	0.11	0.34	0.25	0.23	0.29	0.23
Insertions	0.10	0.07	0.14	0.11	0.11	0.11	0.12
Deletions	0.06	0.02	0.08	0.07	0.05	0.06	0.05
Substitutions	0.01	0.01	0.07	0.04	0.03	0.07	0.01
Dots or Dot <sup>b</sup>	0.04	0.01	0.05	0.04	0.04	0.05	0.05

表 1. 不同 DNA 聚合酶的错配率。对人类 TP53 致癌基因的四种不同外显子进行 PCR 扩增后，通过 454 测序检测七种不同 DNA 聚合酶的错配率。使用 TP53 质粒作为起始模板。

a 错配率，错配数量（错配碱基，插入或缺失的碱基）除以总碱基数。

b 点突变，在 454 测序中表现出的三个连续的 negative flows。

## 成功扩增长达 20 kb 的目的片段

Phusion DNA 聚合酶是长片段 PCR 扩增的理想选择。该酶的持续合成能力使其可以扩增不同大小的模板。即使扩增 20 kb 的片段也具有高的产量、较短的循环时间和高保真度。

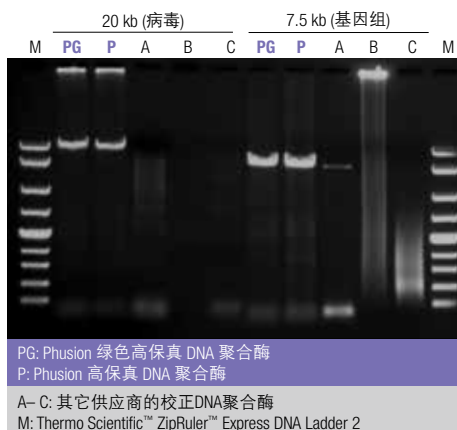


图 2. 获得高产量的长片段 PCR 产物。使用 Phusion DNA 聚合酶和其它供应商的校正 DNA 聚合酶分别扩增 20kb 的 λDNA 片段和 7.5 kb 的人类基因组 DNA 片段。

## 使用少量的酶也能进行有效的扩增

Phusion DNA 聚合酶的独特结构使其具有极高的效率。与普通聚合酶相比，进行任意 PCR 扩增所需的酶单位数明显减少。快速和高效使得在最短的时间里可得到很高的产量。除此之外，Phusion 聚合酶功能强劲，最大程度地减少了优化反应的时间。

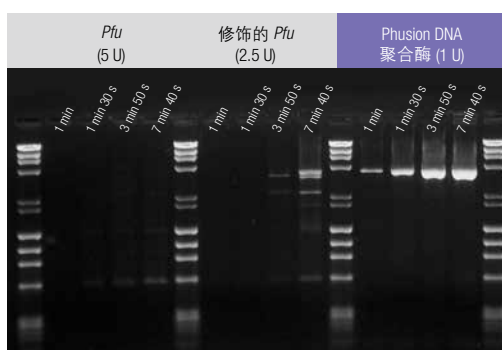


图 3. 所用酶量更少，效率更高。用三种不同 DNA 聚合酶扩增人类 β 球蛋白基因中的 3.8 kb 的片段。使用 Phusion DNA 聚合酶，采用合并的 1 分钟退火延伸步骤即可扩增 3.8 kb 的基因组片段，从而使其比所测试的其它聚合酶更加快速。一个单位的 Phusion DNA 聚合酶比 2.5 或 5 个单位的 *Pfu* DNA 聚合酶具有更高的产量。

## 高特异性的热启动 PCR

Phusion Hot Start II 高保真 DNA 聚合酶是具有高准确性的热启动 DNA 聚合酶。它将 Phusion DNA 聚合酶和一个可逆结合、特异性的 Affibody™ 配体结合。Affibody 配体在室温下抑制 DNA 聚合酶的活性，因此能阻止非特异性产物的扩增。另外，可在室温条件下配制反应体系使其可用于高通量的机械化操作。Affibody 配体也能抑制聚合酶的 3'-5' 核酸外切酶活性，避免在反应体系配制过程中引物和模板 DNA 的降解。在聚合温度下，该配体被释放，使聚合酶具有完全活性。在 PCR 过程中，Phusion Hot Start II DNA 聚合酶在高温下可瞬时激活，无需单独的激活步骤。

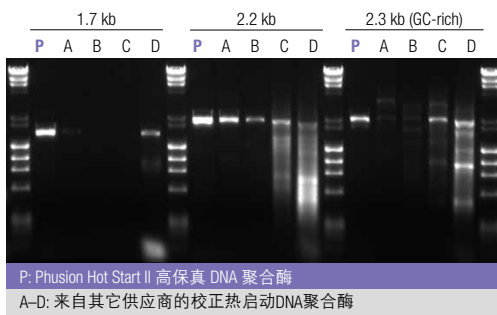


图 4. 高特异性和高产量。使用主要供应商的五种校正热启动 DNA 聚合酶扩增 1.7-2.3 kb 的人类基因组 DNA 片段。Phusion Hot Start II DNA 聚合酶可扩增出高产量的特异性产物，而其它酶则扩增不出或只有极低的产量，一些还能扩增出非特异性的产物。

## 对高 GC 含量的模板也能进行强劲的扩增

经优化的缓冲体系与该酶较强的持续合成能力协同作用，使得 Phusion DNA 聚合酶可扩增很宽范围的不同序列 DNA 模板。能有效的扩增难以扩增的片段，如 85% GC 含量的模板，展示了该酶高效的高保真扩增能力。

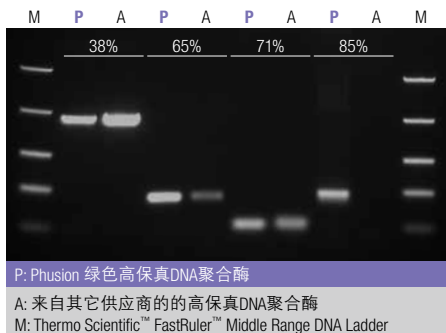


图5. 扩增不同序列组成的 DNA 片段。扩增四种不同 GC 含量的 DNA 片段。Phusion 绿色高保真 DNA 聚合酶能高产量的扩增出所有四种产物。相比之下，竞争对手的高保真聚合酶难以有效扩增出 GC 含量丰富的产物。

## 高保真快速 PCR

相比于其它聚合酶，Phusion DNA 聚合酶每次结合会整合更多的核苷酸。其高持续合成能力使得延伸时间极短，从而减少整个实验流程的时间。使用 Thermo Scientific™ Phusion™ Flash High-Fidelity PCR 预混液，一种专为快速 PCR 开发的产品，可在最短的时间完成实验流程。

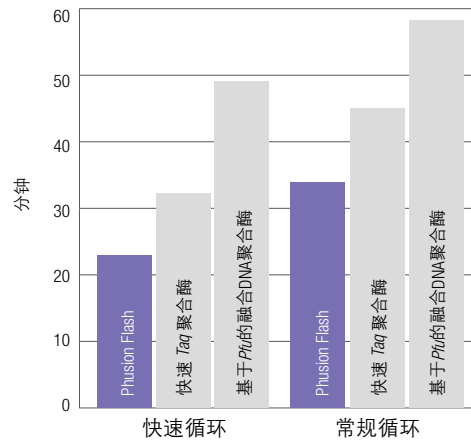


图 6. 使用 Thermo Scientific Phusion Flash 预混液，PCR 反应时间更短

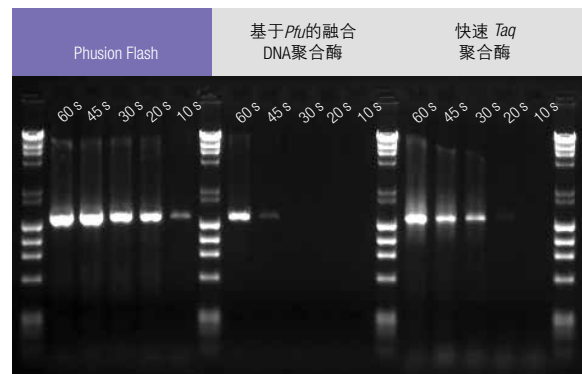


图 7. 使用 Thermo Scientific Phusion Flash 预混液，速度快，产量高。使用三种不同的聚合酶，以不同的延伸时间（10-60s），在 Thermo Scientific™ Piko™ 热循环仪中扩增 1.5 kb 的人类 cathepsin K 基因。只有 Phusion Flash 预混液能在 10 和 20 s 这样短的延伸时间里扩增出 1.5 kb 的基因条带。相比于所测试的其它酶，其能扩增得到更高产量的特异性产物。

## 耐尿嘧啶PCR聚合酶

校正DNA聚合酶由于存在尿嘧啶结合域，其能识别模板链中尿嘧啶残基，阻止DNA的进一步合成，从而使得校正DNA聚合酶不能扩增含尿嘧啶的模板。Thermo Scientific™ Phusion™ U DNA聚合酶在尿嘧啶结合域处具有一个突变，从而克服了这种限制。

Thermo Scientific™ Phusion™ U热启动DNA聚合酶保留了Phusion 酶家族的所有强大的功能特性——高精确性、快速、可扩增长达 20 kb 的长扩增子和基于Affibody 配体热启动的高特异性。

### 应用

- 重亚硫酸盐转化的 DNA 的扩增
- 受损或陈旧 DNA 的扩增
- 残余污染控制
- 基于 Uracil-excision (USER) 的克隆方法

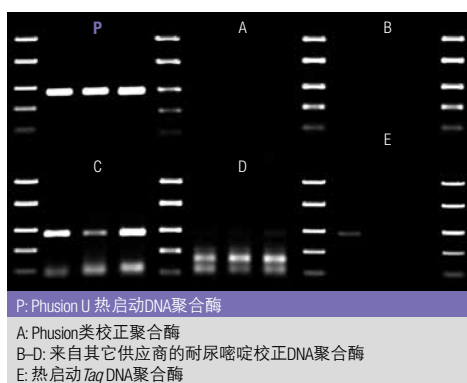


图8. 对于含尿嘧啶的模板，可获得最高的产量和特异性。使用五种不同的校正 DNA 聚合酶和热启动 Taq 聚合酶从重亚硫酸盐处理的人类基因组中扩增 798 bp 的片段。Phusion U 热启动 DNA 聚合酶能扩增得到高产量的特异性产物，而其它酶则扩增产量低或者难以扩增，一些酶还扩增出了非特异性产物。

## 高性能多重PCR

Thermo Scientific™ Phusion™ U多重PCR预混液可实现多个长达2.5 kb目的片段的同时扩增，即使模板浓度和 GC 含量差异明显。对于任何模板DNA，该预混液都可进行快速、灵敏及耐抑制剂的多种PCR。

### 应用

- 基因分型
- 病原体检测
- 食品检测
- 遗传修饰生物的分析研究
- 微卫星序列扩增

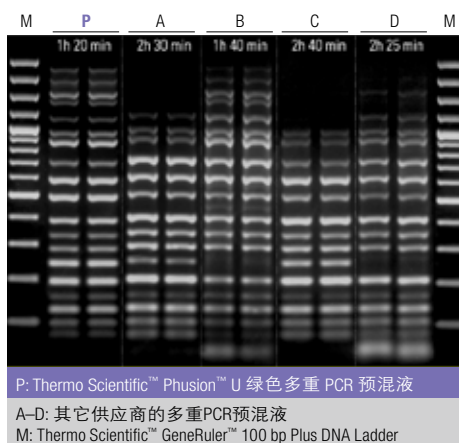


图9. 短时间内进行高度多重PCR。按照制造商的说明，使用不同的多重 PCR 预混液从人类基因组 DNA 中同时扩增 19 个 DNA 片段 (73–2,527 bp)。Phusion U 多重 PCR 预混液能扩增出所有 19 个片段，且扩增速度最快。

### 参考文献:

1. Gibson DG et al. (2008) Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. *Science* 319:1215–1220.
2. Gibson DG et al. (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329:52–56.
3. Kinde I et al. (2011) Detection and quantification of rare mutations with massively parallel sequencing. *PNAS* 108:9530–9535.
4. Frey B, Suppmann B (1995) Demonstration of the Expand PCR System's greater fidelity and higher yields with a *lacI*-based PCR fidelity assay. *Biochemica* 2:8–9.
5. Vandenbroucke I et al. (2011) Minor variant detection in amplicons using 454 massive parallel pyrosequencing: experiences and considerations for successful applications. *Biotechniques* 51:167–177.

“当意识到在原来1/4的时间内可以实现同样多的循环扩增，且价格仅仅是比原来略高一点点，我们毫不犹豫的选择了Phusion。”

博士生  
生物科学部  
爱达荷州立大学, USA

## 酶特点和规格形式

	Phusion High-Fidelity DNA Polymerase	Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase	Phusion Flash High-Fidelity DNA Polymerase	Phusion U Hot Start DNA Polymerase	Phusion U Multiplex PCR Master Mix
平末端或 3'A 末端	平末端	平末端	平末端	平末端	平末端
目的片段长度, 基因组/噬菌体 DNA	≤16/20 kb	≤16/20 kb	≤16/20 kb	≤20 kb	≤2.5 kb
热启动	No	Yes	Yes	Yes	Yes
推荐延伸时间	15–30 s/kb	15–30 s/kb	15 s/kb	15–30 s/kb	15–30 s/kb
与Taq保真度比较	52x	52x	25x	25x	NA
dUTP耐受性	No	No	No	Yes	Yes
<b>特点</b>					
酶 <sup>1</sup>	✓	✓	—	✓	—
绿色缓冲液 <sup>2</sup>	✓	✓	—	✓	✓
预混液 <sup>3</sup>	✓	✓	✓	✓	✓
完整试剂盒 <sup>4</sup>	✓	—	—	—	—
<b>规格形式</b>					

1. DNA聚合酶, 缓冲液, DMSO和MgCl<sub>2</sub>。

2. DNA聚合酶随附绿色缓冲液, 其含有密度试剂盒和两种示踪染料, 用于PCR产物直接凝胶上样。

3. 2X 预混液

4. 含有所有需要的 PCR 反应成分, 包括对照模板和引物。

### 订购信息

产品	规格	货号
<b>Phusion高保真DNA聚合酶和预混液</b>		
Phusion High-Fidelity DNA Polymerase	100 U	F-530S
	500 U	F-530L
Phusion Green High-Fidelity DNA Polymerase	100 U	F-534S
	500 U	F-534L
Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with HF Buffer	100 x 50 µL rxns	F-531S
	500 x 50 µL rxns	F-531L
Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer	100 x 50 µL rxns	F-532S
	500 x 50 µL rxns	F-532L
Phusion High-Fidelity PCR Kit	50 x 50 µL rxns	F-553S
	200 x 50 µL rxns	F-553L
Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase	100 U	F-549S
	500 U	F-549L
Phusion Green Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase	100 U	F-537S
	500 U	F-537L
Phusion Hot Start II High-Fidelity PCR Master Mix	100 x 50 µL rxns	F-565S
	500 x 50 µL rxns	F-565L
Phusion Green Hot Start II High-Fidelity PCR Master Mix	100 x 50 µL rxns	F-566S
	500 x 50 µL rxns	F-566L
Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix	100 x 20 µL rxns	F-548S
	500 x 20 µL rxns	F-548L

产品	规格	货号
<b>Phusion U DNA聚合酶和预混液</b>		
Phusion U Hot Start DNA Polymerase	100 U	F-555S
	500 U	F-555L
Phusion U Green Hot Start DNA Polymerase	100 U	F-556S
	500 U	F-556L
Phusion U Hot Start PCR Master Mix	100 x 50 µL rxns	F-533S
	500 x 50 µL rxns	F-533L
<b>多重PCR预混液</b>		
Phusion U Multiplex PCR Master Mix	100 x 50 µL rxns	F-562S
	500 x 50 µL rxns	F-562L
Phusion U Green Multiplex PCR Master Mix	100 x 50 µL rxns	F-564S
	500 x 50 µL rxns	F-564L
<b>其它基于Phusion聚合酶的产品</b>		
Phusion Site-Directed Mutagenesis Kit	20 rxns	F-541

了解更多请访问

[thermofisher.com/phusion](http://thermofisher.com/phusion)

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982  
 销售服务信箱: sales-cn@thermofisher.com  
 技术咨询信箱: LifeScience-CNTS@thermofisher.com

上海办事处电话: 021-61452000  
 北京办事处电话: 010-84461800

广州办事处电话: 020-38975100  
 成都办事处电话: 028-65545388

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

[thermofisher.com](http://thermofisher.com)