



pfu DNA Polymerase (recombinant)

Catalog# ZT103

目录编号	产品名称	Pfu DNA Polymerase	10×Puf Buffer
<input type="checkbox"/> ZT103-1	pfu DNA Polymerase (recombinant)	250U	0.5ml
<input type="checkbox"/> ZT103-2	pfu DNA Polymerase (recombinant)	500U	1ml

Store at -20 °C

浓度: 2.5U/ul

批次号: #4AE11Y

产品介绍:

pfu DNA Polymerase是从克隆有Pyrococcus furiosus DNA Polymerase基因的大肠杆菌经诱导表达后分离纯化的,其分子量为90 KD。pfu DNA Polymerase具有比Taq酶更高的耐热活性,98°C时1小时后可保留90%以上的酶活性。具有5' -3' DNA聚合酶活性和3' -5' 外切核酸酶活性(校正活性),pfu酶是目前已发现的所有耐高温DNA Polymerase中出错率最低的。在PCR反应中,pfu DNA Polymerase延伸速度为0.5-1 kb/分钟,产物3' 端为平端,可用平端载体克隆。

活性定义:

1单位(U) pfu DNA Polymerase活力定义为在75°C、30分钟内,以活性化的小牛胸腺DNA作为模板/引物,将10 nmol脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

质量控制:

SDS-PAGE检测纯度大于99%;经检测无外源核酸酶活性;PCR方法检测无宿主残余DNA;能有效地扩增人基因组中的单拷贝基因;室温存放一周,无明显活性改变。

酶贮存缓冲液:

10 mM Tris-HCl (pH 8.0); 0.1 mM EDTA; 1 mM DTT; 100 mM KCl ;stabilizers
10×pfu Buffer

10×pfu Buffer:

200mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C), 100mM KCl, 100mM (NH₄)₂SO₄, 20mM MgSO₄, stabilizers.



适用范围:

用于DNA的高保真扩增,如基因表达克隆、基因定点突变、细胞内基因点突变的分析(SNP)和末端补平等。

使用注意事项:

● Pfu酶具有3' -5'的外切酶活性,因此Pfu酶扩增速度和扩增效率低于Taq酶。应根据扩增长度增加酶量和延伸时间。为保持制品的活性,请在第一次融解后,轻轻混匀,然后分装到0.2mlPCR管中使用,避免反复冻融。(一般分装为25ul每管即可。)

● Pfu酶的3' -5'的外切酶活性可降解引物,所以应先加dNTP后,再加Pfu酶到反应体系中,并立即进行PCR反应。

● 用Pfu酶扩增时,引物长度应大于18个碱基,Tm在55-80°C之间,引物浓度在0.1-0.5uM之间,比Taq酶略高。

● Pfu酶的热稳定性比Taq酶好,对于GC含量很高的模板,变性温度可以提高到98°C,对Pfu酶的活性无影响。

反应举例:

提示:以下举例仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异,需根据实际情况,设定最佳反应条件

1.以人基因组DNA为模板,扩增1kb的片段,反应体系为50ul(如反应体系不同,可按此比例增加或减少用量)。

Template	<1ug	PCR反应循环的设置: 94°C 3 min 94°C 30sec 55°C 30sec 72°C 1min/1.5Kb 72°C 5 min 30cycles
Primer 1(10uM)	2ul	
Primer 2(10uM)	2ul	
10×pfu Buffer	5ul	
dNTP Mixture (2.5mM each)	4ul	
Pfu(2.5U/ul)	0.5-1ul	
ddH2O	补至50ul	

具体操作请参考本说明书的使用注意事项!

2.结果检测:反应结束后取5ul反应产物,琼脂糖凝胶电泳检测。