



Pfu DNA Polymerase

储存: -20℃

编号	原编号	品名	浓度	规格
PER 002-1	DH237	Pfu DNA Polymerase (10× Pfu Buffer 含有 Mg^{2+})	2U/ μ l	200U
PER 002-2				1000U
PER 002-3		Pfu DNA Polymerase (10× Pfu Buffer, 20 mM Mg^{2+})	2U/ μ l	200U
PER 002-4				1000U
PER 002-5		Pfu DNA Polymerase (10× Pfu Buffer, DF free)	2U/ μ l	200U
PER 002-6				1000U

产品简介:

Pfu DNA 聚合酶来源于高温嗜热菌 *Pyrococcus furiosus*, 分子量约 90KD. 本产品是从克隆有 Pfu DNA 聚合酶基因的大肠杆菌纯化而来, 具有 5'→3'聚合酶活性及 3'→5'外切酶活性(校正酶活性)。Pfu DNA Polymerase 是公认的目前已发现的热稳定性聚合酶中出错率最低的, 因此 Pfu DNA Polymerase 适用于对保真性要求较高的 DNA 片段的 PCR 扩增。Pfu DNA Polymerase 扩增所得产物为平末端, 需要在其末端加 A 后才能进行 T/A 克隆。经检测无外源核酸酶活性; SDS-PAGE 检测纯度高于 95%; PCR 检测无外源 DNA 残留; 以 λ DNA 为模板, 可有效扩增 3 kb 以下的 DNA 片段, 以人 DNA 为模板, 成功扩增出 1.8 kb DNA 片段。

单位定义:

1 单位 Taq DNA 聚合酶定义为在 72℃, 30 分钟内将 10nmol 同位素标记的全核苷酸掺入到 DE81 脂不溶物质中所需的酶量。

应用范围:

1. 常规 PCR 扩增
2. 基因的高保真扩增, 克隆及表达
3. 基因的定点突变

酶储存缓冲液:

50 mM Tris-HCl (pH 8.3) 100 mM KCl 1 mM DTT 0.1 mM EDTA Stabilizers 50% glycerol

10× Pfu PCR Buffer:

200 mM Tris-HCl (pH 8.8) 100 mM KCl 100 mM $(NH_4)_2SO_4$ 20 mM gSO_4 1% Triton X-100
1 mg/ml BSA

- 10× Pfu PCR Buffer 分为含 Mg^{2+} 和不含 Mg^{2+} 两种, 不含 Mg^{2+} 的 buffer, 配有 20 mM 的 $MgCl_2$
- 另有不含 Triton X-100 的 10× Pfu PCR buffer (DF Free) 可供选择, 可根据实验需要选用

PCR 反应体系 (以 λ DNA 为模板, 扩增 1 Kb 的片段, 50 μ l 反应体系为例)

DNA 模板	10~100 ng	PCR 循环	
上游引物(10 μM)	1 μl	94℃	2-5min
下游引物(10 μM)	1 μl	94℃	30s
10×Pfu PCR Buffer	5 μl	55℃	30s
dNTPs (10 mM)	1 μl	72℃	1min
Pfu (2U/μl)	1 μl	72℃	10min
ddH ₂ O	补至 50 μl	} 30-35cycles	

以上举例为常规 PCR 反应系统, 仅供参考, 实际反应条件因模板、引物等结构不同而各异, 需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物长短等具体情况, 设定最佳反应条件。

注意事项:

- Pfu 具有 3'→5'外切酶活性, 所以扩增延伸速度远比 Taq 酶低, 应根据扩增产物的长短设置相应的延伸时间, 一般情况下 Pfu 酶的延伸速度为 0.5~1 Kb/min。
- Pfu 的 3'→5'外切酶活性可能降解引物, 应先加 dNTPs 后, 再加酶到反应体系中, 并立即进行反应。