

Pfu DNA Polymerase 说明书

货号：AC13872

规格：500U/1000U

浓度：5U/ul

保存：-20℃保存，有效期至少一年。

产品简介：

Pfu DNA Polymerase 是从克隆有 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中表达并经过柱纯化分离出来的重组蛋白，其分子量为 90kD。由于 Pfu 酶具有 3'→5'核酸外切酶活性，它能纠正 DNA 扩增过程中产生的错配，而传统的 Taq 酶却不能，其它耐热 DNA Polymerase 如 Vent、Deep Vent、Tli、UITma 等虽具有校正功能，但 Pfu 酶是目前已发现的所有耐热 DNA Polymerase 中出错率最低的。Pfu 酶无 5'→3'核酸外切酶活性，PCR 反应中的延伸速度一般为 0.5-1kb/min，比 Taq 酶要低。Pfu 酶比 Taq 酶热稳定性更好，95℃ 1 小时仍保持 90%以上的活性，对于 GC 含量很高的模板，变性温度可以提高到 98℃而不影响其活性。Pfu 酶的 PCR 产物为平末端，可加 A 处理再与 T-载体连接或使用平末端克隆载体。

活性定义：

1 单位(U) Pfu DNA Polymerase 活力定义为在 74℃，30 分钟内，以活性化的大马哈鱼精子 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 Pfu DNA Polymerase 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；能有效地扩增人类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：

50mM Tris-HCl (pH 8.2); 0.1 mM EDTA; 1 mM DTT; 50% glycerol; 其他成份。

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。

建议 PCR 体系 (以 50μl 反应体系为例)

Template	<0.5μg
上游引物 (10μM)	1μl
下游引物 (10μM)	1μl
10×Buffer (含 Mg ²⁺)	5μl
dNTP (各 2.5mM)	4μl
Pfu DNA Polymerase	0.5-1μl
ddH ₂ O	up to 50μl

注意事项：

- 1、PCR 反应体系加样时，最后一步加入 Pfu DNA Polymerase，整个过程宜在冰上操作。
- 2、取 Pfu DNA Polymerase 做 PCR 反应时，请用高压灭菌处理过的吸头。
- 3、10×Pfu Buffer 中含 20 mM Mg²⁺，如 PCR 反应需要较高 Mg²⁺浓度，请另行加入。

4、用 Pfu 酶扩增时,引物的纯度要求较高,引物长度大于 18 个碱基, T_m 值在 55-80°C 之间,引物浓度在 0.1-0.5 μ M 之间,比 Taq 酶略高。