

Imagen®

Pfu DNA Polymerase
(with HighPure dNTP mix)

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

Pfu DNA Polymerase (with HighPure dNTP mix)

包装量:

目录编号	包装单位
PR116-01	500U
PR116-02	3000U

组成	PR116-01	PR116-02
Pfu DNA Polymerase	500U	3000U
10×Pfu Buffer ⁺ (with MgSO ₄)	1ml	6×1ml
SuperPure dNTP mix (10 mM Each)	0.2ml	1.2ml

储存: -20 °C 保存。浓度: 5U/μl

制品说明: Pfu DNA Polymerase 是从克隆有 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中分离纯化的, Pfu DNA Polymerase 具有 5' -3' DNA 聚合酶活性和 3' -5' 外切酶活性,能纠正 DNA 扩增过程中产生的碱基错配。Pfu 酶是目前已发现的所有耐高温 DNA Polymerase 中出错率最低的。其 PCR 产物为平端,可直接用平端载体克隆。

活性单位: 1 单位 (U) Pfu DNA Polymerase 活力定义为在 74°C、30 分钟内,以活性的大马哈鱼精子 DNA 作为模板引物,将 10nmol 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: 50mM Tris-HCl(pH 8.2), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, Stabilizers, 50% glycerol。

10×Pfu Buffer (含 Mg²⁺):

200 mM Tris-HCl (pH8.8), 100 mM KCl, 100 mM(NH₄)₂ SO₄, 20 mM MgSO₄, 其他成分。

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、细胞内基因点突变分析 (SNP) 和平末端补平等。

- 注意事项:**
- (1) Pfu 酶具有 3' -5' 的外切酶活性, 所以 Pfu 酶扩增时延伸速度比 Taq 酶低, 应根据扩增产物的长度设置相应的延伸时间, 建议 Pfu 酶的延伸速度为每分钟 1 kb 如扩增片段小于 4 kb; 延伸速度为每分钟 0.5 kb 如扩增片段大于 4 kb。同时 Pfu 酶的 3' -5' 的外切酶活性可能降解引物, 所以应先加 dNTP 后, 再加 Pfu 酶到反应体系中, 并进行 PCR 反应。
 - (2) 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, Tm 在 55-80℃ 之间, 引物浓度在 0.1-0.5 μM 之间, 比 Taq 酶略高。
 - (3) 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℃, 对 Pfu 酶的活性无影响。
 - (4) **高保真 Pfu 对于 dNTP 纯度要求很高, 因此建议用本酶配套的超纯 dNTP mix。**

建议的 PCR 条件: (以 50 μl 反应体系为例)

Template	<0.5 μg
Forward Primer(10 μM)	1 μl
Reverse Primer(10 μM)	1 μl
10×Buffer(With MgSO ₄)	5 μl
SuperPure dNTP Mixture(各 10mM)	1 μl
Pfu DNA polymerase(5U/μl)	0.5 μl

dH₂O

up to 50 μl

PCR 反应循环的设置:

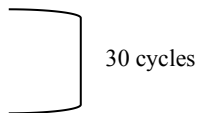
94°C: 2-5 min

94°C: 30 sec

50-60°C: 30 sec

72°C: 0.5-1kb/min

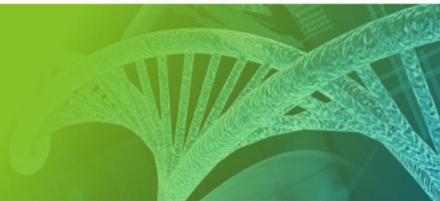
72°C: 5-10 min



以质粒为模板扩增，一般 1kb/min 就足够了。

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com