

## Pfu DNA Polymerase 使用说明书

产品编号: FSL2630-500U (5U/ $\mu$ L)

保存温度: -20°C

产品内容:

Components	FSL2630-500U
Pfu DNA Polymerase (5 U/ $\mu$ L)	100 $\mu$ L
10×Pfu DNA Polymerase Buffer	1 mL
10×Pfu DNA Polymerase Buffer(含染料)	1 mL
说明书	1 份

产品说明:

该酶在 75°C 时可进行 DNA 复制, Pfu DNA 聚合酶在镁存在的条件下可催化核苷酸沿 5'→3' 方向发生聚合反应, 形成双链 DNA, Pfu DNA 聚合酶具有 3'→5' 外切酶校正活性。当聚合反应发生碱基错配时, 聚合酶的校正活性可将错配的碱基切除。本产品在所有热稳定性聚合酶中 Pfu DNA 聚合酶的错误几率最低, 错误率约为  $1 \times 10^{-6}$ /每碱基对, 缺点是 PCR 扩增灵敏度较 Taq 低。建议 Pfu DNA 聚合酶用于要求保真度比较高的 PCR 反应, 引物的延伸反应以及其它一些应用, 包括克隆、DNA 表达、突变分析等。Pfu DNA 聚合酶产生的 PCR 产物为平端, 无末端磷酸化。若要进行“T-A”克隆, 可在 PCR 反应完了之后, 加入 Taq DNA 聚合酶, 于 72°C 反应 1-2 小时, 以便在 DNA 3' 端附加一个“A”。

产品来源:

为重组 *E.coli* 菌株, 其基因组中含有来源于 *Pyrococcus furiosus* 的 *Pfu DNA polymerase* 基因。

活性定义:

在 75°C 条件下, 30 分钟内催化 10nmol dNTP 的掺入反应成为酸不溶性物质所需的酶量为一个活性单位。

贮存条件:

10mM Tris-HCl (pH 8.2, 25°C), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Tween -20, 0.1% Igepal

反应条件:

20 mM Tris-HCl (Ph8.6, 25°C), 10mM KCl, 16mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2 mM MgSO<sub>4</sub>, 1mg/ml BSA, 0.1% Triton

X-100

热失活： 无

质量保证：

本品经 PCR 验证，活性测定，内切核酸酶/缺刻酶测定和 SDS-PAGE 纯度鉴定。保证产品的质量稳定可靠。

使用注意：

除了酶活性丧失外，下列因素也可能导致扩增失败：(1) 模板太多或太少 (2) 样品中存在 Mg<sup>2+</sup> 络合剂，导致 Mg<sup>2+</sup>实际浓度过低 (3)PCR 仪温度不准 (4) 临床来源的样品中含有未知的 Pfu DNA 聚合酶抑制剂 (5) 引物部分降解 (6) dNTP 部分降解等。建议:每 50 微升反应体系中,酶用量为 0.5-1 微升最好,酶量少可能扩增效率低下,使用时请注意!

用途：

1. 基因亚克隆的 PCR 扩增。
2. 蛋白质表达载体的构建。
3. 突变体的制备。

反应举例：

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

以人基因组为模板，扩增 1kb 的片段为例。

1.PCR 反应体系的建立，50ul 体系如下：（可按比例放大或缩小体系）

Template	<1ug
Primer 1(10uM)	<1ul
Primer 2(10uM)	<1ul
5×Pfu DNA Polymerase Buffer	10ul
dNTP(2.5mM)	4ul
Pfu DNA Polymerase (5 u/μl)	0.5ul
ddH <sub>2</sub> O	补至 50ul

