



中科瑞泰

pfu DNA Polymerase 高保真平末端DNA聚合酶

产品编号及规格:

RTH3102-02	100U(40μl)
RTH3102-03	5×100U(5×40μl)

储存条件:

-20℃ 贮存。

产品简介:

pfu DNA Polymerase是嗜热古细菌来源的DNA聚合酶，该酶除具有5'-3'DNA聚合酶活性外，还具有很强的3'-5'外切酶活性，增强了PCR扩增的保真度。与Taq酶相比，pfu聚合酶热稳定性更好，更能忍耐较高的变性温度。pfu的保真性是Taq DNA聚合酶的10-15倍。延伸速度为0.5kb/分钟。PCR产物3'端不带碱基A，为平滑末端，要通过平滑末端克隆法进行克隆。

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10nmol脱氧核苷酸掺入到酸不溶物质所需的酶量。

PCR 反应性能:

以λ DNA为模板，可以很好扩增5kb的DNA片段；以水稻基因组为模板，可以很好扩增3.2kb的DNA片段。

10×pfu PCR Buffer:

200 mM Tris-HCl (pH 8.4); 200 mM KCl;
100 mM (NH₄)₂SO₄; 20 mM Mg²⁺;
其它成分。

使用范围:

高保真的DNA片段的扩增、DNA片段的平滑化。

使用说明:

1. 按照下表在0.2ml PCR管中制备反应体系:

成分	20μl 反应体系	50μl 反应体系	终浓度
Template	0.04-0.2 μg	0.1-0.5 μg	as you wish
Primer 1 (10 μM)	0.4 μl	1 μl	0.2 μM
Primer 2 (10 μM)	0.4 μl	1 μl	0.2 μM
10×pfu PCR buffer(含Mg ²⁺)	2 μl	5 μl	1×
dNTP Mixture(10 mM)	0.4 μl	1 μl	200 μM each
pfu (2.5 U/μl)	0.4 μl	1 μl	0.05U/μl
ddH ₂ O	up to 20 μl	up to 50 μl	-

2. 混匀后，离心快甩将反应液收集到管底。
3. PCR仪如果没有热盖加热的话，补加25μl矿物油。
4. PCR仪上执行以下程序:

步骤	温度	时间	循环数
初始变性	94℃	3-5 min	1
变性	94℃	30 sec	25-40*
退火	50-60℃*	30 sec	
延伸	72℃	0.5kb/min*	
最后延伸	72℃	5 min	1

*注：PCR 反应条件视模板、引物等的结构条件不同而各异。在实际操作中需根据模板、目的片段的大小、碱基序列和引物的长短等具体情况，设定最佳的反应条件（温度、时间等）。