

## Pfu DNA Polymerase

**货号:** APC1300

**规格:** 500U/1000U

**浓度:** 5U/ul

**保存:** -20°C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°C 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°C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°C, 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 <sup>2+</sup> )	5μl
dNTP(各2.5mM)	4μl
Pfu DNA Polymerase	0.5-1μl
ddH <sub>2</sub> 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 Mg<sup>2+</sup>，如PCR反应需要较高Mg<sup>2+</sup>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<sub>m</sub>值在55-80°C之间，引物浓度在0.1-0.5μM之间，比Taq酶略高。

**相关产品：**

*APC1320 2×Pfu PCR MasterMix (含染料)*

*PC2200 dNTPs Mix(10mM each)*

*AD1020 10×DNA上样缓冲液*

*AT1060 50×TAE 缓冲液*

*AG8142 GoldView II型核酸染色剂(5000×)*