上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

Pfu 酶

产品货号：S10122

产品内容：

Components	S10122-500u
Pfu DNA Polymerase（5 u/ul）	100 ul
10×Pfu DNA Polymerase Buffer	1 ml
10×Pfu DNA Polymerase Buffer(含染料)	1 ml
说明书	1 份

注意：两种 Buffer 任选

产品说明：

该酶在 75℃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 1×10-6/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℃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℃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℃), 0.1mM EDTA， 1mM DTT, 0.1% Tween -20, 0.1%Igepal

反应条件：

20 mM Tris-HCl (Ph8.6, 25℃), 10mM KCl, 16mM (NH4)2SO4, 2 mM MgSO4, 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 Mg2+ 络合剂，导致 Mg2+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
10×Pfu DNA Polymerase Buffer	5ul
dNTP(2.5mM)	4ul
Pfu DNA Polymerase（5 u/μ l）	0.5ul

ddH2O	补至 50ul

2.PCR 反应循环的设置：

94℃ 3 min

94℃ 30 sec

55℃ 30 sec　} （30 Cycles）

72℃ 1 min

72℃ 5 min

3.结果检测：

反应结束后取 5ul 产物，琼脂糖凝胶电泳检测。