

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

产品名称: *Pfu* DNA 聚合酶

Cat #: AD-100, AD-200, AD-OEM

储存条件: -20°C保存

制品说明:

Pfu DNA 聚合酶是一种来自高温古菌火球菌的高度耐热的DNA聚合酶。该酶依赖模板沿5'→3'方向,催化核苷酸类聚合成双链 DNA 分子。*Pfu* DNA聚合酶具有3'→5'核酸外切酶(校对)活性,使聚合酶可校正误掺入的核苷酸。它没有5'→3'核酸外切酶活性。*Pfu* DNA聚合酶和其他酶的主要区别在于 *Pfu* DNA 聚合酶具有优异的热稳定性和校对性能。与*Taq* DNA 聚合酶不同, *Pfu* DNA 聚合酶还具有3'→5'核酸外切酶校对活性,导致PCR片段的错配率比*Taq* DNA 聚合酶生成的PCR产物低。*Pfu* DNA 聚合酶是一种高保真 DNA 合成聚合酶,但也可以与 *Taq* 聚合酶结合使用,既保持 *Pfu* DNA 聚合酶的高保真性,又能发挥*Taq* DNA 聚合酶的快速聚合活性。

操作步骤:

1. 离心管中按顺序加入下列试剂并吸打混匀,短暂离心将液体收集到管底;

试剂	试剂量 (25ul体系)	试剂量 (50ul体系)	终浓度
10X <i>Pfu</i> reaction buffer	2.5 µl	5 µl	1X
10uM正向引物	1ul	2ul	400uM
10uM反向引物	1ul	2ul	400uM
模板DNA	根据所需	根据所需	请看备注
MgCl ₂ (可选)	根据所需	根据所需	请看备注
<i>Pfu</i> DNA Polymerase (2.5 U/ul)	0.5-1 ul	1-2 ul	请看备注
ddH ₂ O	补至终体积为 25 µl	补至终体积为 50 µl	

2. 热循环条件: 3步PCR

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2-5min.	
变性	94°C	30sec.	25-35循环
退火	45°C-68°C**	30sec.	
延伸	72°C	30-60sec./kb	
终延伸	72°C	1-5min.	
	4°C	保存	

**比引物最低 Tm 值低 3-5°C。

备注:

- 1、*Pfu* DNA 聚合酶用量: 为了反应的稳定性,可按照增加 0.5ul *Pfu* DNA 聚合酶的量来优化实验。
- 2、推荐模板 DNA 用量:

基因组DNA	50-250 ng
质粒DNA	1pg-10ng
病毒DNA	1pg-10ng

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

3、Mg⁺

1× *Pfu* 反应缓冲液中最终Mg²⁺浓度是2mM;
如有需要以0.5mM 的量加入Mg²⁺;
建议Mg²⁺ 浓度范围为2mM-4mM;

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。