



## Pfu DNA聚合酶 (Pfu DNA Polymerase)

### 产品说明:

本公司生产的Pfu DNA聚合酶是从高度耐热菌*Pyrococcus furiosus*中克隆的DNA聚合酶基因原核表达，经柱层析纯化获得的超纯高度耐热DNA聚合酶，SDS-PAGE显示为一条92kD的蛋白条带。该酶除具有5'-3' DNA聚合活性外，还具有3' -5' DNA外切活性（校读活性），因此催化的DNA合成错误掺入率比Taq DNA聚合酶低约一个数量级，是保真性能最好的耐热聚合酶。该酶无末端转移酶活性，扩增得到的PCR产物为平末端，可直接进行平末端连接克隆。

### 产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Pfu DNA Polymerase	250 u	-20℃
10x PCR Buffer	1 ml	-20℃

Pfu DNA聚合酶活性为2.5 u/μl，可进行100次常规PCR (100 μl) 反应。低温运输，-20℃保存。有效期12个月。10×PCR Buffer含有Mg离子浓度为20 mM。

### 所需其它试剂:

使用者需准备PCR反应需要的模板、引物、dNTP和蒸馏水等。

### 操作方法示例:

1) 按下表配制PCR反应液。

10×PCR Buffer	10 μl	
dNTP Mixture (各2.5 mM)	8 μl	
Primer 1 (20 μM)	2 μl	
Primer 2 (20 μM)	2 μl	
Template DNA	1 μl	
Pfu	1 μl	
蒸馏水 up to	100 μl	

2) 按下列条件进行PCR反应:

94℃ 3min _____	
94℃ 30sec	
55℃ 30sec	27 cycles
68℃ 30sec ~5 min _____	
68℃ 7min	

3) 取5 μl电泳观察。

### 注意事项:

- 1) Pfu DNA聚合酶催化的DNA链延伸速度较慢，约500bp/min左右，因此设计PCR反应时，循环内的延伸时间应按每kb片段设定在2min左右。
- 2) Pfu DNA聚合酶的有效扩增片段长度约为1~2kb，对更长片段的扩增效率低。