

SuperPfu DNA Polymerase(With UltraPure dNTP Mixture)

使用说明书

目录号:

目录编号	包装单位
NS008-01	500U
NS008-02	3000U

组成	NS008-01	NS008-02
SuperPfu DNA Polymerase	500U	3000U
10× SuperPfu Buffer(with MgSO ₄)	1mL	6×1mL
UltraPure dNTP Mix(10 mM Each)	0.2mL	1.2mL

产品储存: 4°C运输, -20°C保存, 有效期 24 个月。

产品浓度: 5U/μL

制品说明: 本制品 SuperPfu DNA Polymerase 是从克隆有 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中分离纯化的, 经过基因工程改造后大大提高了活性、稳定性、延伸速度等指标。SuperPfu DNA Polymerase 具有 5'-3'DNA 聚合酶活性和 3'-5'外切酶活性, 能纠正 DNA 扩增过程中产生的碱基错配。SuperPfu 酶是目前已发现的所有耐高温 DNA Polymerase 中出错率最低的, 非常适合用于高保真 PCR 扩增。其 PCR 产物为平端, 可直接用平端载体克隆。

活性单位: 1 单位(U)SuperPfu 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:

1. 50mM Tris-HCl(pH 8.2), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, Stabilizers, 50% Glycerol.

2. 10× SuperPfu Buffer(含 Mg^{2+}): 200mM Tris-HCl(pH8.8), 100mM KCl, 100mM $(NH_4)_2SO_4$, 20mM $MgSO_4$, 其他成分。

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、细胞内基因点突变分析(SNP)和平末端补平等。

建议的 PCR 条件: (以 50 μ L 反应体系为例)

Components	Volume(50 μ L)
Template	<0.5 μ g
Forward Primer(10 μ M)	1 μ L
Reverse Primer(10 μ M)	1 μ L
10× Buffer(With $MgSO_4$)	5 μ L
UltraPure dNTP Mix(各 10mM)	1 μ L
SuperPfu DNA Polymerase(5U/ μ L)	0.5 μ L
ddH ₂ O	up to 50 μ L

参考模板用量: (50 μ L 反应体系)

质粒: 0.1-10ng; 细菌基因组: 10-100ng; 人类基因组: 50-150ng;

cDNA: 1-5 μ L from RT reaction。

PCR 反应循环的设置:

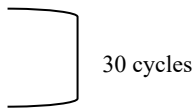
94°C: 2-5 min

94°C: 30 sec

50-60°C: 30 sec

72°C: 0.5-1kb/min

72°C: 5-10 min



注: 以质粒为模板扩增, 一般 1kb/min 就足够了。

注意事项:

1. SuperPfu 酶具有 3'-5' 的外切酶活性, 所以 SuperPfu 酶扩增时延伸速度比 Taq 酶低, 应根据扩增产物的长度设置相应的延伸时间, 建议 SuperPfu 酶的延伸速度为每分钟 1kb 如扩增片段小于 4kb; 延伸速度为每分钟 0.5kb 如扩增片段大于 4kb。同时 SuperPfu 酶的 3'-5' 的外切酶活性可能降解引物, 所以应先加 dNTP 后, 再加 SuperPfu 酶到反应体系中, 并立即进行 PCR 反应。
2. 用 SuperPfu 酶扩增时, 引物的纯度要求较高, 引物长度大于 18 个碱基, T_m 在 55-80°C 之间, 引物浓度在 0.1-0.5 μ M 之间, 比 Taq 酶略高。
3. SuperPfu 酶的热稳定性比 Taq 酶好, 对于 GC 含量很高的模板, 变性温度可以提高

到 98°C，对 SuperPfu 酶的活性无影响。

4. 高保真 SuperPfu 对于 dNTP 纯度要求很高，因此建议用本酶配套的超纯 dNTP Mix。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

