

使用说明书

GeneCopiaTM
Expressway to Discovery

GeneCopia Inc.
19520 Amaranth Drive
Germantown, Maryland 20874
USA
Tel: 301-515-6982; 1-866-360-9531
Fax: 301-515-6983
Web: www.genecopia.com

UltraPFTM DNA Polymerase

高效超保真DNA聚合酶

产品套装编号: C0103A, 本套装包含以下产品:

产品内容	产品编号	包装规格
UltraPF TM DNA Polymerase (5U/μl)	C01030A	40μl
5×UltraPF TM Reaction Buffer (Mg ²⁺ free)	C01031A	1ml
MgSO ₄ (20mM)	C10020A	1ml
dNTP (10mM)	C10010C	0.1ml

保存条件: -20 °C

■ 产品说明

UltraPFTM DNA Polymerase是一种耐热的超保真DNA聚合酶, 具有5'-3'聚合酶活性和3'-5'外切酶活性, 具有比Pfu DNA Polymerase更好的保真性能和更快的扩增速率。使用该产品扩增得到的PCR产物为平滑末端, 可直接克隆于平滑末端载体中。

■ 来源

*E. coli*重组蛋白。

■ 酶活性单位定义

用活化化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物, 在74°C, 30分钟内, 将10nmol脱氧核苷酸摄入为酸不溶物质所需要的酶量定义为1个活性单位 (U)。

■ 品质保证

无核酸内切、外切酶活性, 也无核酸污染, 其酶纯度检测大于99%。

■ 应用

高保真PCR、基因克隆、基因定点突变、长片段扩增。

■ 储存缓冲液

20mM Tris-Cl (pH8.0), 100mM KCl, 0.2mg/ml BSA, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.5% Nonidet P-40, 0.5% Tween-20和50%甘油。

■ 基本反应条件

1、PCR体系:

反应物组成	体积	终浓度
5× Reaction Buffer	5μl	1×
MgSO ₄ (20mM)	2.5μl	2.0mM
Primer1		0.2~1μM
Primer2		0.2~1μM
dNTP (10mM)	0.5μl	0.2mM
Template	1~100ng(质粒) 10~1,000ng(基因组)	
UltraPF TM DNA Polymerase	0.2μl	1U/Reaction
ddH ₂ O	up to 25μl	

2、PCR条件:

98°C	1min	} 30 cycles
98°C	10sec	
Tm-5°C	30sec	
72°C	1~4kb/min	
72°C	7min	
4°C	hold	

■ 结果示例

1、UltraPF™ DNA Polymerase的超保真性能

克隆243个人源基因（共232,104bp）进行测序，结果表明，仅8个碱基发生错配，其保真性为*Taq* DNA Polymerase的20倍，为*Pfu* DNA Polymerase的3倍。

2、UltraPF™ DNA Polymerase的高扩增性能

以10ng Lambda DNA为模板，用UltraPF™ DNA Polymerase进行PCR反应，在同样的PCR条件下从2.5kb到12kb的DNA片段均有良好的扩增（结果见下图）。

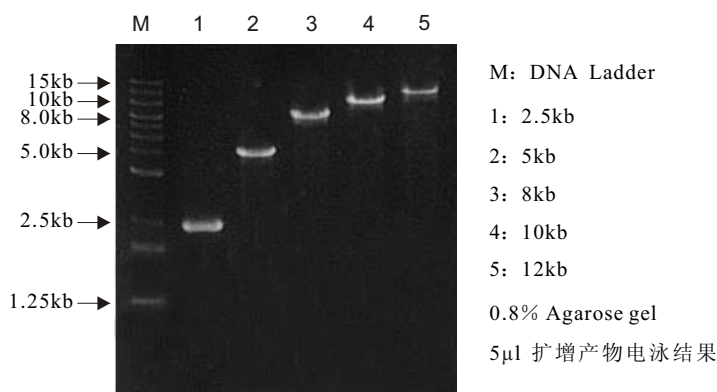
按下列组分配制PCR反应液:

反应物组成	体积
5× UltraPF™ Buffer (Mg ²⁺ free)	5μl
10× MgSO ₄ (20mM)	2.5μl
dNTP (各10mM)	0.5μl
Primer mix (各5μM)	1μl
Lambda DNA (10ng/μl)	1μl
UltraPF™ DNA Polymerase (5U/μl)	1U
ddH ₂ O	up to 25μl

PCR 反应条件

98℃	1min
98℃	10sec
62℃	30sec
72℃	10min
72℃	20min
4℃	hold

} 30cycles



■ 使用注意事项

1. PCR反应条件应根据模板、目的片段大小、引物结构等具体条件不同，设定最佳反应条件。
2. 由于该酶具有3'-5'外切酶活性，会降解引物，所以在使用时，当该酶与引物混合后，应立即进行反应。
3. UltraPF™ DNA Polymerase具有很高的热稳定性，因此在PCR中变性温度可提高至98℃。
4. UltraPF™ DNA Polymerase的合成速率约是*Pfu* DNA Polymerase的10倍，因此对于简单模板（质粒、Lambda DNA或BAC等）其延伸时间可为15-30sec/kb，对于复杂模板（如基因组DNA）其延伸时间可为60sec/kb。
5. UltraPF™ DNA Polymerase对dUTP敏感，反应体系中不能含有dUTP。
6. 当扩增高G+C含量片段或者困难模板时，可添加适量的DMSO。
7. PCR反应各组分应在冰上配制，然后置于PCR仪上进行反应，可增强PCR反应的特异性，减少非特异性扩增。

■ 相关产品

<i>Taq</i> DNA Polymerase	C0101A
Super <i>Taq</i> DNA Polymerase	C0102A

▶ 生产经销商：广州复能基因有限公司



复能基因
FulenGen

广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器D区8楼（邮编：510663）

技术热线：020-32068595 电子邮箱：support@fulengen.com 网址：www.fulengen.com