

Pfu DNA 聚合酶



批号 :
有效期 :
浓度 : 5u/μl
提供 : 2ml of 10X ViBuffer A
1ml of 10X ViBuffer S
1ml of 50mM MgCl₂

-20°C 保存



产品数据表

目录号 : PL5201
数量 : 100u

info@vivantechnologies.com

产品描述:

Pfu DNA 聚合酶是一种极耐热的具有校正功能的DNA聚合酶。适合应用于要求高温条件的DNA合成。在Mg²⁺存在下, Pfu DNA聚合酶催化核苷酸沿5' → 3' 方向聚合成双链DNA。具有3' → 5' 外切酶校正活性, 从而使其保真度比Taq DNA聚合酶高出10倍以上。

产品特点:

- 超纯重组蛋白允许扩增片段长达8kb。
- 建议用于高保真扩增, 富含GC序列或二级结构不确定的扩增, 高温下的引物延伸反应和钝性末端的扩增产物克隆。

单位定义:

一单位酶定义为: 在74° C、30分钟内催化10nmol dNTP掺入到酸不溶物质所需的酶量。

反应缓冲液:

10X ViBuffer A (无MgCl₂):

500mM KCl, 100mM Tris-HCl (pH9.1 at 20°C), 0.1% Triton™X-100.

The buffer is optimized for use with 0.1-0.2mM of each dNTP.

10X ViBuffer S:

160mM (NH₄)₂SO₄, 500mM Tris-HCl (pH 9.2 at 22°C), 17.5mM MgCl₂ and

0.1% Triton™X-100. The buffer is optimized for use with 0.35mM of each dNTP.

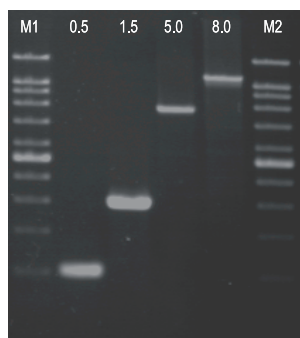
酶储存液:

20mM Tris-HCl (pH 8.0 at 22°C), 100mM KCl, 0.5% Tween™ 20, 0.5%

Nonidet P-40, 0.1mM EDTA, 1mM DTT and 50% glycerol.

质量控制:

一系列质量控制试验用来检测受污染的核酸内切酶, 核酸外切酶, 以及非特异性DNA酶的活性。用DNA扩增来进行功能测试。



Amplification Using Vivantis Pfu DNA Polymerase
Lane M1 : VC 1kb DNA Ladder
Lane 0.5 and 1.5kb : 0.5kb PCR amplification product generated using 0.2mM dNTPs and 2.0u Vivantis Pfu DNA Polymerase.
Lane 5kb and 8kb : 5kb and 8kb amplification products generated using 0.25mM dNTPs, 2.5u Vivantis Pfu DNA Polymerase and 3% of formamide.
Lane M2 : VC Lambda/HindIII Marker

0.7% TAE agarose gel

用Vivantis DNA聚合酶(#PL5201 - 06 / #PL5211 - 16)扩增的各种大小的PCR产物, 建议使用初始的PCR反应条。
反应混合液 (终浓度):

引物 : 0.5μM	产物大小	100bp - 5kb	5kb - 8kb
模板 : 质粒(0.02-0.2ng) 基因组(0.05-5μg)	dNTP Mix	100μM	200μM
	ViBuffer (1X)	A	S
	Ultrapure DMSO	-	3%
	DNA Polymerase	参照下表 (A)	

用无菌蒸馏水补足至50ml

产物大小	100bp - 5kb	5kb - 8kb
起始变性	95°C, 2 min	95°C, 2 min
变性	94°C, 20 s	94°C, 12 s
退火	50 - 68°C, 30 s	50 - 68°C, 30 s
延伸 / 1kb	72°C, 2 min	72°C, 2 min
循环	25 - 35	25 - 35
最后延伸	72°C, 7 min	72°C, 7 min

Primer dependent

表 (A): 根据指定的Vivantis聚合酶, 在每50μL反应体系中推荐酶的单位用量:

Product Size	Taq (#PL1201 - 06) ¹	Max Taq (#PL2201 - 06) ²	Pfu (#PL5201 - 06)	Max Pfu (#PL5211 - 16)
0.1 - 5.0kb	2.0	2.0	2.0	2.0
5.0 - 8.0kb	2.5	2.0	2.5	2.0
8.0 - 20.0kb	2.5	2.0	2.5	2.0
>20.0kb	-	2.0	-	2.0

表示此条件的改变取决于模板DNA

¹ 代表也适用于 At Taq (#PL3201-06)
² 代表也适用于 Max At Taq (#PL4201-06)