

# FastPfu DNA Polymerase

目录号: AE221

储存条件: -20°C可保存2年。

## 产品组成

成分	AE221-01	AE221-02	AE221-03
FastPfu DNA Polymerase (2.5 U/μl)	250 U	500 U	3000 U
10xFastPfu Buffer	1.2 ml	1.2 mlx2	1.2 ml x12
6xDNA loading buffer	1 ml	1 ml	1 ml x 6

## 产品简介

FastPfu DNA Polymerase 是用于快速 PCR 扩增的高保真 DNA 聚合酶, 扩增速度快(5-10 sec/kb, 是普通 Pfu 酶的 4-8 倍), 克服了普通 Pfu 酶扩增能力差、产量低和扩增速度慢的缺陷。

- 保真性是 Taq DNA Polymerase 的 50 倍。
- 扩增产物为平端, 可克隆于 pToy-Blunt 载体中。
- 基因组 DNA 片段的扩增( $\leq 12$  kb), Plasmid DNA 片段扩增( $\leq 20$  kb)。

## 活性定义

1 单位(U) FastPfu DNA polymerase 活性相当于在 72°C 30 min 内, 以活性化的大马哈鱼精子 DNA 作为模板, 将 10 nM 脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物所需的酶量。

## 质量控制

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(15-25°C)存放两周, 无明显活性改变。

## 酶贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl pH8.0, 100 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, stabilizers, 50% Glycerol

## 10xFastPfu Buffer

200 mM Tris-HCl pH 8.8, 500 mM KCl, 100 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 20 mM  $\text{MgSO}_4$

## 适用范围

1. 长片段扩增。
2. 复杂模板的扩增。
3. 高 GC/AT 模板的扩增。
4. 高保真 PCR 快速扩增, 平端克隆, 基因定点突变。

## 注意事项

- 建议酶在最后一步加入到反应体系中。
- 高GC模板推荐变性温度采用98°C。

## 应用实例



以下举例仅供参考，实际反应需根据模板、引物、片段长度等变量，设定最佳反应条件。

1. 反应体系配制（以50  $\mu$ l反应体系为例）:

组成成分	用量
Template	100-200 ng
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
10xFastPfu Buffer	5 $\mu$ l
dNTPs (2.5 mM each)	4 $\mu$ l
FastPfu DNA Polymerase	0.5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l

2. PCR反应条件的设置:

94°C	2 min	
98°C	10 sec	} 30-35 cycles
Tm-5°C	10 sec	
72°C	5-10 sec/kb	
72°C	5 min	

3. 结果检测：反应结束后取5  $\mu$ l反应产物，琼脂糖凝胶电泳检测。

