

CAT#: GZ020202



Pfu DNA Polymerase

(含预混 Mg^{2+} 的 10 × Taq Buffer)

使用手册 V2.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

💡 产品及特点

Pfu DNA Polymerase 是从克隆有 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase 基因的大肠杆菌中表达并经过柱纯化分离出来的重组蛋白，其分子量为 90kD。该酶具有 3'→5' 核酸外切酶活性，能纠正 DNA 扩增过程中产生的错配，是目前已发现的所有耐热 DNA Polymerase 中出错率最低的。该酶无 5'→3' 核酸外切酶活性，PCR 反应中的延伸速度一般为 0.5-1kb/min，比 Taq DNA Polymerase 要低。该酶热稳定性更好，95℃ 1 小时仍保持 90% 以上的活性，对于 GC 含量很高的模板，变性温度可以提高到 98℃ 而不影响其活性。使用该酶进行 PCR 扩增得到的产物为平末端，不能直接用 TA 载体克隆。

📋 成分规格

产品组成	GZ020202-250	GZ020202-500
Pfu DNA Polymerase	250U, 2.5U/μl	500U, 2.5U/μl
10 × Pfu Buffer (含 Mg ²⁺)	1 ml	2*1 ml

✈️ 保存条件

-20℃，有效期 1 年。

🧪 使用方法

(注意：以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的调整和优化)

1. PCR 体系：

推荐体系 (50 μl)

试剂	用量
模板 DNA	< 1μg
10 × Pfu Buffer	5 μl
dNTP Mixture(2.5 mM each)	4 μl
Primer 1 (10 μM)	2 μl
Primer 2 (10 μM)	2 μl
Pfu DNA Polymerase (2.5 U/μl)	0.5 ~ 1 μl

ddH ₂ O	Up to 50 μ l
--------------------	------------------

(注意: a 引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下,可提高引物的浓度;发生非特异性反应时,可降低引物浓度,由此优化反应体系。b 镁离子浓度请以终浓度 1.5-3mM 作为设定范围的参考。可根据不同的引物对和模板来调节镁离子浓度,由此优化反应体系)

2. PCR 程序

过程	温度	时间
预变性	94 $^{\circ}$ C	5 min
25~35 cycles	变性	94 $^{\circ}$ C
	退火	55-65 $^{\circ}$ C
	延伸	72 $^{\circ}$ C
终延伸	72 $^{\circ}$ C	1kb/60 sec
		5 min

(注意: a.一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5 $^{\circ}$ C, 无法得到理想的扩增效率时,适当降低退火温度;发生非特异性反应时,提高退火温度,由此优化反应条件。b.延伸时间应根据所扩增片段大小设定, Taq DNA Polymerase 的扩增效率为 1 kb/60 sec。c.可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少,扩增量不足;如果循环次数太多,错配机率会增加,非特异性背景严重。所以,在保证产物得率的前提下,应尽量减少循环次数)

3. 结果检测: 反应结束后取 5 μ l 反应产物, 加入适量上样缓冲液后进行琼脂糖凝胶电泳检测。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ020103-1	2 $\times$ Pfu PCR MasterMix (含染料)
GZ070104	6 $\times$ Loading Buffer
GZ070105	50 $\times$ TAE
GZ070106	10 $\times$ TBE
GZ070501	dATP(100mM)
GZ070502	dTTP(100mM)
GZ070503	dGTP(100mM)
GZ070504	dCTP(100mM)
GZ070505-1	dNTP(2.5mM each)
GZ070507	MgCl ₂ (25 mM)



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯