

# SuperPfu DNA Polymerase



北京艾德莱生物科技有限公司  
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：[www.aidlab.cn](http://www.aidlab.cn) 邮箱：[info@aidlab.cn](mailto:info@aidlab.cn)

## 使用说明书

### 包装量:

目录编号	包装单位
PC0302	500U
PC0303	3000U

组成	PC0302	PC0303
SuperPfu DNA Polymerase	500U	3000U
10xSuperPfu Buffer <sup>+</sup> (with MgSO <sub>4</sub> )	1ml	6x1ml
SuperPure dNTP mix (10 mM Each)	0.2ml	1.2ml

储存：-20 °C 保存。浓度：5U/μl

**制品说明：** 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 中出错率极低的。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 10nmol 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：** 50mM Tris-HCl(pH 8.2), 0.1mM EDTA, 1mM DTT, Stabilizers, 50% glycerol.

### 10xSuperPfu Buffer (含 Mg<sup>2+</sup>):

200 mM Tris-HCl (pH8.8), 100 mM KCl, 100 mM(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>, 20 mM MgSO<sub>4</sub>, 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。

**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 1 kb 如扩增片段小于 4 kb；延伸速度为每分钟 0.5 kb 如扩增片段大于 4 kb。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<sub>m</sub> 在 55-80°C 之间，引物浓度在 0.1-0.5 μM 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。

建议的 PCR 条件: (以 50 $\mu$ l 反应体系为例)

Template	<0.5 $\mu$ g
Forward Primer(10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Reverse Primer(10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
10xBuffer(With MgSO <sub>4</sub> )	5 $\mu$ l
SuperPure dNTP Mixture(各 10mM)	1 $\mu$ l
SuperPfu DNA polymerase(5U/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ l

参考模板用量 (50  $\mu$ 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 $\mu$ l from RT reaction。

PCR 反应循环的设置:

94°C:	2-5 min	} 30 cycles
94°C:	30 sec	
50-60°C:	30 sec	
72°C:	0.5-1kb/min	
72°C:	5-10 min	

以质粒为模板扩增，一般 1kb/min 就足够了。