



sPfu DNA Polymerase

保存条件: -20℃保存, 有效期一年。

试剂组成:

组成	sPfu DNA polymerase (2.5U/μl)	5×sPfu Buffer
AT110-01	250U	1ml

产品介绍:

sPfu DNA polymerase 为高保真酶, 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。sPfu 保真性比 Taq DNA polymerase 高 64 倍, 比 pfu DNA polymerase 高 8 倍。

产品特点:

1. 高保真 PCR 扩增, 扩增速度快, 10-30s/kb。
2. 平末端 PCR 产物扩增, RT-PCR。

建议的 PCR 条件: (以 50μl 反应体系为例)

Template	<0.5 μg
Forward Primer(10 μM)	1 μl
Reverse Primer(10 μM)	1 μl
5× Buffer(With MgSO4)	10 μl
dNTP Mixture(各 2.5mM)	4 μl
sPfu DNA polymerase(2.5U/μl)	0.5-1 μl
dH ₂ O	up to 50 μl

PCR 循环设置:

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	2min	1 次
变性*	98℃	5-10s	25-40 次
退火**	50-72℃	10s	
延伸***	72℃	10-30s/kb	
后延伸	72℃	5min	1 次

*PCR 扩增时, 98℃变性持续时间可以设定 5-10 秒钟, 简单模板 5 秒钟, 复杂模板 10 秒钟。

**一般条件下, 可以采用如左表所列的三温度梯度循环的 PCR 扩增方法, 引物的退火温度为两条引物中较低 T_m-5, 引物的退火持续时间可以设定 10 秒钟。当两条引物的 T_m 值都大于等于 70℃时, 而且都使用了长引物, 可用两步法来扩增, 两步法中退火温度和延伸温度都为 72℃。

***延伸时间依赖于扩增产物的长度和复杂度。对于质粒, BAC 这类简单模板, 可用 15 秒钟/kb 延伸速度, 对于高复杂性的基因组 DNA, 可用 30 秒钟/kb 延伸速度。扩增 1kb 以下的产物时, 延伸时间不要超过 40 秒钟。