

sPfu DNA Polymerase

KM201 250U

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KM201
sPfu DNA polymerase(2.5U/μl)	- 20°C	250u
5×sPfu Buffer	- 20°C	1ml

本试剂储存于 - 20°C内 12 个月不影响使用效果。

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:

高保真 PCR 扩增, 扩增速度快, 10-30s/kb。

平末端 PCR 产物扩增, 适合高保真 RT-PCR, PCR。

PCR反应举例:

1. PCR 以下举例仅供参考。(实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异, 需根据实际情况, 设定最佳反应条件。)
2. 用 sPfu DNA Polymerase 产品, 以人基因组 DNA 为模板, 扩增 1 kb 的片段, 反应体系为 25 μl (如反应体系不同, 可按此比例增加或减少用量)。

Components	25微升体系
Template (模板)	<0.25μg
Forward primer(10μM)	0.5μl
Reverse primer(10μM)	0.5μl
5×Buffer(With MgSO4)	5μl
dNTP Mixture(各2.5mM)	2μl
sPfu DNA polymerase(2.5U/μl)	0.2-0.5μl
ddH ₂ O to final volume	25μl

3. PCR 反应循环的设置:

98°C: 2min

98°C: 5-10 sec

50-72°C: 10sec

72°C: 10-30sec/KB

72°C: 5min



30-35 cycles

4. PCR 扩增时, 98°C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。
5. 一般条件下, 可以采用如上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。
6. 当两条引物的 T_m 值都大于等于 70°C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°C。
7. 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
8. 结果检测: 反应结束后取 5μl-10μl 反应产物, 琼脂糖凝胶电泳检测。