

## Super Pfx DNA Polymerase

### 目录号:

S665588 (100 U)

S665588 (500 U)

保存条件: -20°C

### 产品内容

Component	100 U	500 U
Super Pfx DNA Polymerase, 2U/μL	50 μL	250 μL
2×Super Pfx Buffer	2×1.25 mL	7×1.8 mL
dNTP Mix, 10mM each	150 μL	750 μL

### 产品简介

Super Pfx DNA Polymerase 是一种快速、高扩增效率的高保真 DNA 聚合酶，该聚合酶具有 5'-3'DNA 聚合酶活性和 3'-5'外切酶活性。该酶经其他高保真酶改造而来，扩增能力强、扩增速度快，保真度高，克服了普通 Pfu 酶扩增能力差、产量低和扩增速度慢的缺陷，极大地缩短了反应时间。本品可用于长片段扩增及其他各种复杂模板的扩增，扩增得到的 PCR 产物的 3'端不带有“A”碱基，可直接克隆于平末端载体中，如需进行 T/A 克隆，需在 PCR 产物末端添加“A”后进行克隆。本产品适用于基因克隆、基因定点突变、SNP 等扩增实验。

### 活性定义

在 74°C，30 分钟内，将 10 nmol 脱氧核苷酸掺入到酸性不溶物质所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

### 质量控制

经过多次柱纯化，SDS-PAGE 检测其纯度大于 98%；经检测无外源核酸酶活性；室温存放一个月，无明显活性改变。

### 使用方法

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改进和优化。

1. PCR 反应体系 所有操作请在冰上进行，各组分解冻后请充分混匀，用完之后请及时放回 -20℃ 保存。

试剂	50 $\mu$ L 反应体系	终浓度
2×Super Pfx Buffer	25 $\mu$ L	1×
dNTP Mix, 10 mM each	1.5-2.5 $\mu$ L	300-500 $\mu$ M each
Forward Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	2 $\mu$ L	0.4 $\mu$ M
TemplateDNA 适量	适量	<500 ng/50 $\mu$ L
Super Pfx DNA Polymerase	0.5-0.75 $\mu$ L	1-1.5 U/50 $\mu$ L
ddH <sub>2</sub> O	up to 50 $\mu$ L	

## 2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	98°C	30 s-3 min	
变性	98°C	10-30 s	25-35 cycles
退火	根据引物 T <sub>m</sub> 定	15-30 s	25-35 cycles
延伸	72°C	3-5 kb/min	25-35 cycles
终延伸	72°C	5 min	

## 注意

- 1) 优先使用三步法扩增，三步法无法扩增目的产物或引物 T<sub>m</sub> 值大于 68° C，请尝试两步法。
- 2) 变性：简单模板的预变性 98°C，30s-1min，对于复杂的模板，预变性时间可延长至 3min。
- 3) 退火：一般实验中退火温度比引物的 T<sub>m</sub> 值低 3-5°C，如无法得到理想的扩增效率时，应梯度改变退火温度，进行优化；发生非特异性反应时，适当提高退火温度。
- 4) 延伸：延伸时间应根据所扩增片段的长度和模板复杂程度设定，本产品扩增效率为 3-5 kb/min，对于长片段及复杂性高的模板建议 2-4kb/min。
- 5) 循环次数：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，循环次数太多，错配机率会增加，所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。