



Super Pfx DNA Polymerase

目录号：CW2848S (100 U)

CW2848M (500 U)

保存条件：-20°C

产品内容

Component	CW2848S 100 U	CW2848M 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 μ L反应体系	终浓度
2×Super Pfx Buffer	25 μ L	1×
dNTP Mix, 10 mM each	1.5-2.5 μ L	300-500 μ M each
Forward Primer, 10 μ M	2 μ L	0.4 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	2 μ L	0.4 μ M
Template DNA适量	适量	<500 ng/50 μ L
Super Pfx DNA Polymerase	0.5-0.75 μ L	1-1.5 U/50 μ L
ddH ₂ O	up to 50 μ L	

2. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	
预变性	98℃	30 s-3 min	
变性	98℃	10-30 s	} 25-35循环
退火	根据引物T _m 定	15-30 s	
延伸	72℃	3-5 kb/min	
终延伸	72℃	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_m值大于68℃, 请尝试两步法。
- 2) 变性: 简单模板的预变性98℃, 30 s-1 min, 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_m值低3-5℃, 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2-4 kb/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。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及其它用途