

Pfu Super DNA polymerase

02-022 200 U 2.5 U/μl,

02-022-5 5 x 200 U 2.5 U/μl

輸送、保存温度：輸送：4℃又は-20℃、保存：-20℃

本製品は、*Pyrococcus furiosus* DNA polymerase (*Pfu* DNA polymerase) 遺伝子を大腸菌で大量に発現させ、高度に精製したものである。天然の *Pfu* DNA polymerase と同じく分子量 90 kDa で耐熱性 DNA ポリメラーゼ活性および 3'→5' エキソヌクレアーゼ活性をもち、複製を促進する因子を加えることで精確性を維持したまま伸張性が增強されている。

- エラーの少なさと熱安定性、高い増幅力と伸張性を兼ね備えた酵素
- PCR やプライマーエクステンションにおいて高い忠実性が求められる場合に最適
- PCR 産物は平滑末端を有する

用途

- ・ 遺伝子クローニング
- ・ DNA 発現
- ・ 変異導入

一般的な PCR 反応液組成 (total 50μl)

Pfu Super DNA Polymerase (2.5unit/μl)	0.5 μl
10x Standard Buffer (Pfu)	5 μl
2.5mM (each) dNTPs	4 μl
Template	<500 ng
Primer 1	0.2~1.0 μM (final conc.)
Primer 2	0.2~1.0 μM (final conc.)
滅菌蒸留水	up to 50 μl

活性の定義：活性化サケ精子 DNA を鋳型/プライマーとして 72℃、30 分間に 10 nmol の dTTP を酸不溶性沈殿物に取り込む活性を 1 unit とする。

純度：SDS-PAGE (CBB 染色) で 95%以上が *Pfu* DNA polymerase タンパク質。

エンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼのコンタミネーションが検出されないことを確認している。

PCR 検定：λ DNA を鋳型とした PCR 反応において良好な増幅がみられることを確認している (図 1)。

濃度：2.5 unit/μl

保存バッファー：50 mM Tris-HCl (pH 8.2), 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% glycerol, 0.1% Tween20, 0.1% Igepal CA-630

添付：(1) 10 x Standard Buffer (Pfu)：(200 mM Tris-HCl (pH 8.8), 100 mM KCl, 100 mM (NH₄)₂SO₄, 20 mM MgSO₄, 1% Triton X-100, 1 mg/ml BSA) (02-Psd, 1ml) 従来品 本製品
(2) 2.5mM (each) dNTPs (02-Dnt, 640μL) 2 4 6 8 10 12 2 4 6 8 10 12 kbp

図 1 λ DNA 増幅例

PCR 条件

98 ° C 10sec
55 ° C 30sec
72 ° C 12min. } 30 cycles

* 本製品は 10~12 kb の伸長が可能である。

