**Kofu DNA polymerase**

**■ 制品说明：**

Kofu DNA Polymerase是一种通过基因改造的工程酶，相较于一般的DNA聚合酶对DNA有更高的亲附性，能显著的提高DNA的持续合成能力，有效的提高PCR产物。Kofu DNA Polymerase具有优良5’→3’聚合酶活性及3’→5’外切酶活性（校读活性），其优异外切酶活性能有效的降低错配的发生概率，保证了扩增的准确性，具有很高的保真性，是普通Taq酶的100倍；Kofu DNA Polymerase具有较普通DNA聚合酶更快的合成速度，广泛的适用于含高GC、高AT在内各种底物模板进行长片段高效，高保真的扩增。

**■产品组成**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品名称** | **包装规格** |
| **KTSM2103** | **KTSM2104** |
| Kofu DNA polymerase（1U/μl） | 250 μl | 4\*250 μl |
| 5× Hi-Fi delity Buffer | 5 ml | 5 ml |

**■贮存溶液**：

|  |  |
| --- | --- |
| Tris-HCl（pH8.0） | 20 mM |
| KCl | 100 mM |
| EDTA | 0.1 mM |
| DTT | 1 |
| Tween 20 | 0.5% |
| Nonidet P-40 | 0.5% |
| Glycerol | 50% |

**■保存**：

-20℃长期保存，保质期2年。

**■用途**：

高保真PCR扩增，测序文库扩增，PCR产物平末端链接，位点特异性突变等。

**■活性定义**：

用活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，在74℃，30分钟内，摄入10 nmol的全核苷酸为酸性不溶物的活性定义为1个活性单位（U）。

**■PCR产物末端形状**：

使用本制品扩增得到的PCR产物末端为平末端，适用于平末端连接。

**■反应举例**：

1.推荐反应液组成

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **终浓度** | **50 µl反应** |
| Kofu DNA polymerase（1U/μl） | 0.5U/50 μl | 0.5 μl |
| 5× Hi-Fi delity Buffer(含15 mM Mg2+) | 1× | 10 μl |
| dNTP Mixture(10 mM each) | 0.3 mM each dNTP | 1.5 μl |
| Template DNA | ≤50ng基因组DNA≤10ng质粒或噬菌体DNA | 1 μl |
| 引物 1(10 μM) | 0.3 μM | 1.5 μl |
| 引物 2(10 μM) | 0.3 μM | 1.5 μl |
| 灭菌蒸馏水 |  | Up to 50 μl |

注：溶解并混匀PCR反应所需的各种溶液，放置于冰浴上或冰盒内。

2.反应条件

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 步骤 | 温度 | 时间 | 循环数 |
| Step1(热激时间) | 95℃ | 2-5 min | 1 |
| Step2(变性) | 98℃ | 20 sec | 15-35 |
| Step3(退火) | Tm +/-10℃ | 15 sec |
| Step4(延伸) | 72℃ | 30s/kb |
| Step5(最终延伸) | 72℃ | 10 min | 1 |
| Step6(临时保存) | 4℃ | forever |  |

注：变性条件根据使用的PCR仪型号和反应管种类进行设定。