

DNA free-Quantum Pfu DNA Polymerase

From *Pyrococcus furiosus*, recombinant (*E. coli*)

Cat. No. DFQP-250, DFQP-500

Storage Temperature -20°C

1. 제품 정보(Description)

PCR 과정의 높은 온도에서 dCTP의 일부가 dUTP로 변환되고 dUTP는 Pfu DNA polymerase의 기능을 정지 시킴으로 합성을 억제합니다. 특히 5 kb 이상의 long PCR의 경우에 합성을 억제하여 long PCR을 어렵게 하는 주요 원인 중의 하나입니다.

DNA free-Quantum Pfu DNA Polymerase는 내열성 dUTPase가 포함되어 있어서 PCR과정에서 생성되는 dUTP를 효과적으로 제거 시킬 수 있도록 고안된 제품입니다.

또한 높은 GC% 때문에 증폭이 어려운 template도 제품에 포함된 최적화된 buffer를 사용하여 쉽게 증폭이 가능합니다.

따라서 본 제품을 사용하여 기존에 합성이 되지 않던 높은 GC 함량의 template를 효과적으로 증폭시키며 또한 dUTP의 생성을 효과적으로 차단함으로써 높은 신장력과 정확도를 유지할 수 있습니다.

2. 제품 특징

- Source : *Pyrococcus furiosus*
- 5'→3' exonuclease activity : No
- 3'→5' exonuclease activity : Yes
- Amplification size : > 10 kb
- Error rate : 10⁻⁶
- A-tailing : No

3. 제품 적용(Application)

- Long range PCR
- High fidelity PCR
- Site-directed mutagenesis
- Blunt end cloning
- Sequencing / cycle sequencing

4. 제품 구성(Kit components)

제품 구성	DFQP-250 (250Unit)	DFQP-500 (500Unit)
DNA free-Quantum Pfu Polymerase (2.5 Unit/μl),	100 μl	200 μl
DNA free dNTPs mixture 10 mM (2.5 mM each)	1 ml	1 ml
10X PCR Buffer with 25 mM MgCl ₂	1.5 ml	1.5 ml

5. Storage buffer:

20 mM Tris-HCl(pH 8.0), 100 mM KCl, 0.5 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 50% Glycerol

6. Unit definition:

One unit is defined as the amount of enzyme that will incorporate 10 nM of dNTP into acid-insoluble products in 30 minutes at 75 °C.

7. 실험방법(Reaction protocol)

1) Reaction mixture (for 20 μl or 50 μl reaction)

Reaction component	Volume	
Template*	1 ng ~ 1 μg	
10X PCR buffer	2 μl	5 μl
DNA free-dNTPs mixture **	1.6 μl	4 μl
Forward and reverse primers***	5~10 pmole	
Quantum Pfu DNA polymerase****	0.5 ~ 2.5 unit	
DNase free water	up to 20 μl	up to 50 μl

* For genomic DNA template, 50ng ~ 1ug, For plasmid DNA, 1 ng ~ 10 ng

** Repeat thawing of dNTPs may cause poor PCR reaction.

*** Primer는 GC%를 높게하고 길이도 20 mer 이상을 사용하는 것이 좋습니다.

2) PCR 반응 조건

3 steps

Step	Temperature	Time	# of cycles
Initial denaturation*	95°C	1~2 min	1
Denaturation	95°C	30 sec	25~35
Annealing**	55~65°C	30 sec	
Extension	72°C	30 sec ~ 1 min / kb	1
Final elongation	72°C	5~10 min	
Cooling	4°C	Unlimited time	1

2 steps

Step	Temperature	Time	# of cycles
Initial denaturation*	95°C	1~2 min	1
Denaturation	95°C	30 sec	25~35
Annealing**	68°C	30 sec ~ 1 min / kb	
Cooling	4°C	Unlimited time	1

3) 5X Band Optima

증폭할 부위의 GC 함량이 높거나 복잡한 secondary 구조를 가지고 있어 증폭이 어려운 경우 5X Band Optima 를 추가구매 하여 사용할 수 있습니다.

8. 관련 제품

Hot Taq Polymerase	Cat. No.
DNA free-HotTaq DNA Polymerase 250 unit	DFH-250
DNA free-HotTaq DNA Polymerase 500 unit	DFH-500
PCR Master Mix	
DNA free-Taq Master Mix, 5 ml	DFTM-5