Pfu-PLUS DNA polymérase

#Pfu+, Pfu-PLUS DNA polymérase **2U/µl** **100 U**

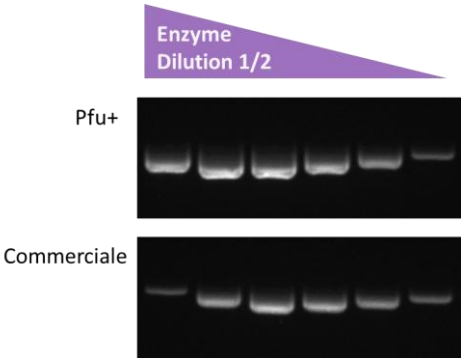
(*Suffisant pour 250 réactions de PCR de 20µl)*

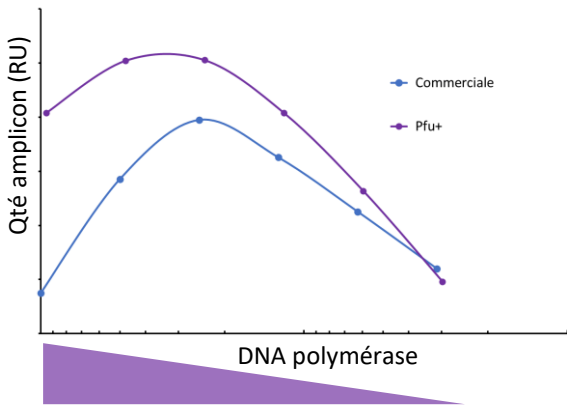
Une DNA polymérase de très haute fidélité (>50X Taq) pour les applications demandant une conservation de la séquence ADN après l'amplification tel que le clonage et le séquençage. Elle est également efficace sur de longs amplicons.

Elle est purifiée à partir de cellules *E. coli* exprimant un clone recombinant modifié de la Pfu DNA Polymérase. Elle rencontre différents standards de qualité préétablis: Pureté par SDS-PAGE, absence de DNase, capacité d'amplification, absence d'ADN bactérien.

Détermination de l'activité

Détermination de l'activité de la Pfu-PLUS DNA polymérase (#Pfu+, SPP)



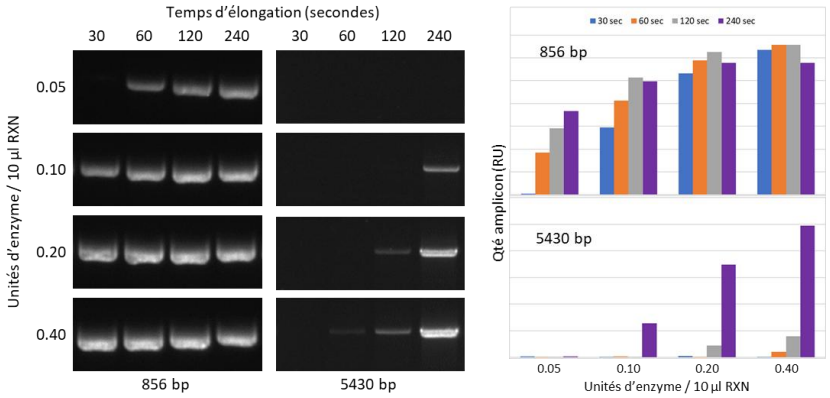


Réaction:	*10 µl de réaction en suivant le protocole établi (produit de 856bp)*
Substrat:	*1ng d'un plasmide (6000bp)*
Enzyme:	*Dilutions sériées des enzymes: #Pfu7+ et DNA polymérase commerciale équivalente*
Conditions de réaction:	*200µM dNTP, 200nM amorce F et R*
	*30 sec à 95°C; **20 cycles** (5 sec à 95°C, 10 sec à 60°C, 60 sec à 72°C); 5 min à 72°C*
Détermination de l'activité:	*Quantification de l'amplicon obtenu sur gel d'agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed*

Exemples d'optimisation du rendement d'amplification

Effet du temps d'élongation et de la quantité d'enzyme

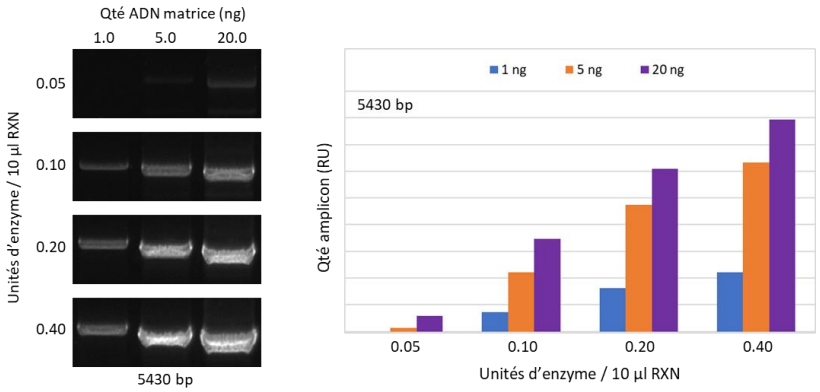
Détermination de l'effet du temps d'élongation et de la quantité d'enzyme Pfu-PLUS DNA polymérase selon la taille de l'amplicon désiré (20 cycles)



Réaction:	*10 µl de réaction en suivant le protocole établi (produit de 856bp et 5430bp)*
Substrat:	*1ng d'un plasmide (6000bp)*
Enzyme:	*Pfu-PLUS DNA polymérase à différentes concentrations*
Conditions de réaction:	*200µM dNTP, 200nM amorce*
	*30 sec à 95°C; **20 cycles** (5 sec à 95°C, 10 sec à 60°C, [30, 60, 120, 240] sec à 72°C); 5 min à 72°C*
Détermination de l'activité:	*Quantification de l'amplicon obtenu sur gel d'agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed*

Effet de la quantité d'ADN matrice et d'enzyme

Détermination de l'effet de la quantité d'ADN matrice et d'enzyme Pfu-PLUS DNA polymérase pour obtenir un amplicon de 5430bp (20 cycles)



Réaction:	*10 µl de réaction en suivant le protocole établi (5430bp)*
Substrat:	*1, 5, 20ng d'un plasmide (6000bp)*
Enzyme:	*Pfu-PLUS DNA polymérase à différentes concentrations*
Conditions de réaction:	*200µM dNTP, 200nM amorce*
	*30 sec à 95°C; **20 cycles** (5 sec à 95°C, 10 sec à 60°C, 240 sec à 72°C); 5 min à 72°C*
Détermination de l'activité:	*Quantification de l'amplicon obtenu sur gel d'agarose 0.75% en présence de 0.25X GelRed*

Pfu-PLUS DNA polymérase

Conditions de réaction suggérées

PCR standard:

	10µl RXN	20µl RXN	Concentration finale
4X Pfu-PLUS buffer	2.5 µl	5.0 µl	1X
10 mM dNTPs	0.2 µl	0.4 µl	200 µM
10 µM Forward Primer	0.2 µl	0.4 µl	200 nM
10 µM Reverse Primer	0.2 µl	0.4 µl	200 nM
ADN	Variable	Variable	Variable
Pfu-PLUS pol (2U/µl)	0.1 µl	0.2 µl	1U / 50µl PCR
H2O (Nuclease-free)	to 10 µl	to 20 µl	

ÉTAPE	TEMP.	DURÉE
Dénaturation initiale	95-98°C	30 sec
25-35 Cycles	95-98°C	5-10 sec
	45-72°C	10-30 sec
	72°C	30-60 sec/kb
Extension	72°C	5-10 min

.: L'utilisation de cette enzyme dans d'autres applications et conditions nécessite une optimisation.

Autres produits et services à la plateforme.

❖ Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	*DESCRIPTION*
#RI-L	*RNase inhibitor, 5000U*
#MRT	*MMuLV RT, 10000U*
#Taq-250	*Taq DNA polymérase, 1250U*
#HqPCR-200	*HqPCR polymérase, 1000U*
#HFPCR	*HFPCR polymérase, 500U*
#Pfu-PLUS	*Pfu-PLUS DNA polymérase 100U*
#S-mix	*Supermix qPCR 2X, 5ml*
#T4Lig	*T4 DNA ligase, 20000U*
… et plus!	

• Rencontre les contrôles de qualité spécifiques au produit • Tests fonctionnels effectués • Conseils sur l'utilisation du produit • Ne déboursez que les frais de production • Satisfaction et activité garanties •

❖ Purification personnalisée de protéines, SPR et +

Contactez la plateforme pour plus de détails.

Plateforme de purification des protéines
Faculté de médecine et des sciences de la santé
Département de Microbiologie et Infectiologie
Université de Sherbrooke
3201, rue Jean Mignault, Sherbrooke (Québec) J1E 4K8
Local Z8-1011, Tél 819-821-8000 #72156
SPP_FMSS@USherbrooke.ca