

## Pfu-PLUS DNA polymérase

#Pfu+, Pfu-PLUS DNA polymérase 100 U ..... 55\$  
(Suffisant pour 250 réactions de PCR de 20µl)

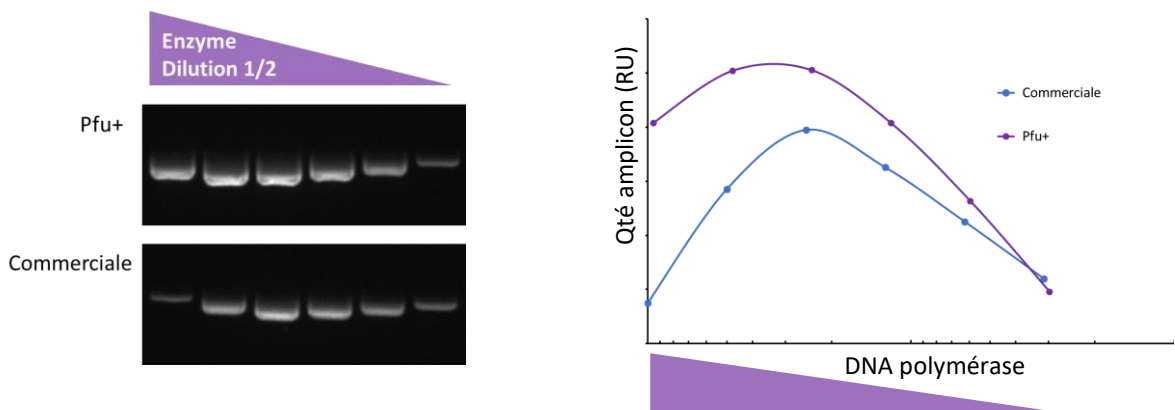
Une DNA polymérase de très haute fidélité (>50X Taq) pour les applications demandant une conservation de la séquence ADN après l'amplification tel que le clonage et le séquençage. Elle est également efficace sur de longs amplicons.

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.

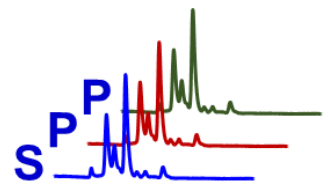


### Détermination de l'activité

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



## Conditions de réaction suggérées

PCR standard:

	10µl RXN	20µl RXN	Concentration finale	ÉTAPE	TEMP.	DURÉE
4X Pfu-PLUS buffer	2.5 µl	5.0 µl	1X	Dénaturation initiale	95-98°C	30 sec
10 mM dNTPs	0.2 µl	0.4 µl	200 µM	25-35 Cycles	95-98°C	5-10 sec
10 µM Forward Primer	0.2 µl	0.4 µl	200 nM		45-72°C	10-30 sec
10 µM Reverse Primer	0.2 µl	0.4 µl	200 nM		72°C	30-60 sec/kb
ADN	Variable	Variable	Variable	Extension	72°C	5-10 min
Pfu-PLUS pol (2U/µl)	0.1 µl	0.2 µl	1U / 50µl PCR			
H2O (Nuclease-free)	to 10 µl	to 20 µl				

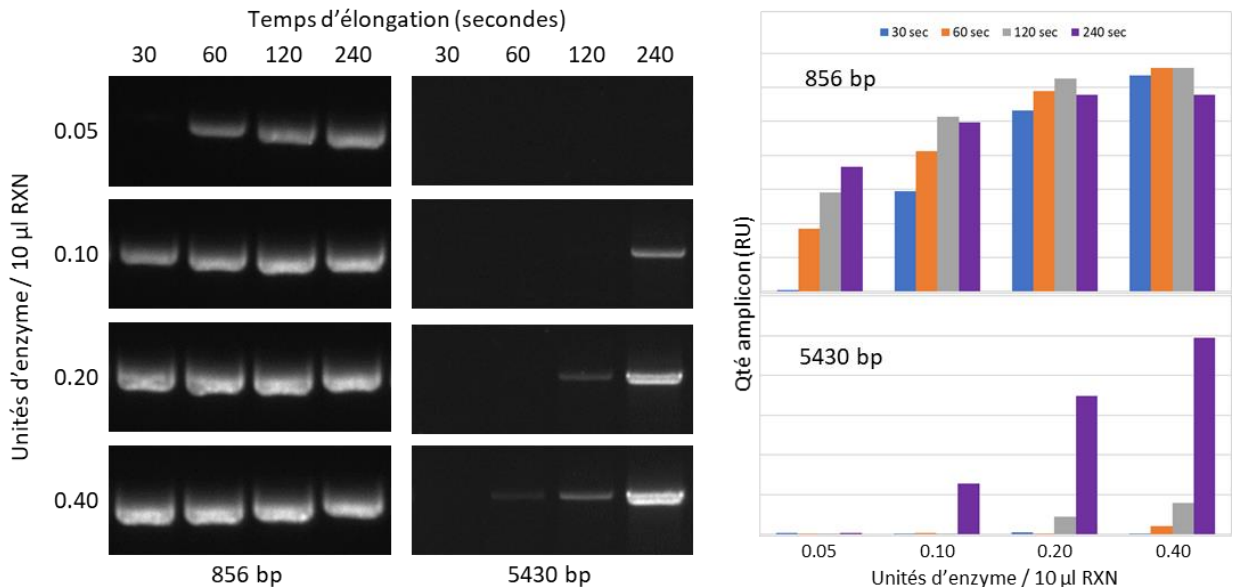
.: L'utilisation de cette enzyme dans d'autres applications et conditions nécessite une optimisation.



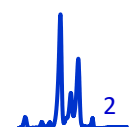
## Exemples d'optimisation du rendement d'amplification

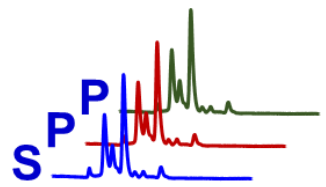
### Effet du temps d'élongation et de la quantité d'enzyme

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)



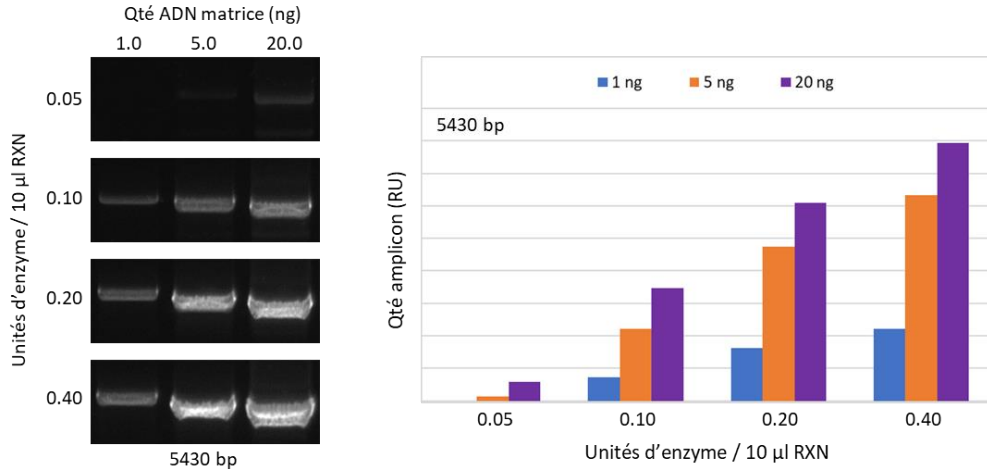
**Réaction:** 10 µl de réaction en suivant le protocole établi (produit de 856bp et 5430bp)  
**Substrat:** 1ng d'un plasmide (6000bp)  
**Enzyme:** Pfu-PLUS DNA polymérase à différentes concentrations  
**Conditions de réaction:** 200µM dNTP, 200nM amorce  
 30 sec à 95°C; **20 cycles** (5 sec à 95°C, 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



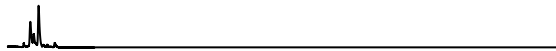


## Effet de la quantité d'ADN matrice et d'enzyme

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



### Autres produits et services du S.P.P.

#### Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	DESCRIPTION	FRAIS
#RI-L	RNase inhibitor, 5000U	70 \$
#MRT	MMuLV RT, 10000U	35 \$
#Taq-250	Taq DNA polymérase, 1250U	55 \$
#HqPCR-200	HqPCR polymérase, 1000U	90 \$
#HFPCR	HFPCR polymérase, 500U	60 \$
#Pfu-PLUS	Pfu-PLUS DNA polymérase 100U	55 \$
#S-mix	Supermix qPCR 2X, 5ml	50 \$
#T4Lig	T4 DNA ligase, 20000U	30 \$
... 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 le S.P.P. pour plus de détails.



Bruno Lemieux Ph.D.  
[Bruno.Lemieux@USherbrooke.ca](mailto:Bruno.Lemieux@USherbrooke.ca)  
 Local Z8-1011, Poste 72156  
 Site Web: <https://www.usherbrooke.ca/medecine/recherche/notre-caractere-distinctif/infrastructure-et-plateformes-de-la-recherche/plateforme-de-purification-des-protéines>