

2×Super Pfx Master Mix

目录号: S665634

保存条件: -20℃

产品内容

Component	1mL	5mL
2×Super Pfx Buffer	1mL	5×1mL
ddH ₂ O	1mL	5×1mL

产品简介

本产品为由 Super Pfx DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs 以及反应缓冲液组成的优化的 2× 预混型 试剂, 只需要添加引物和 DNA 模板即可进行 PCR 反应。Super Pfx DNA Polymerase 具有 3'→5' 外切酶活性, 其保真性约为 Taq DNA 聚合酶的 100 倍, 是克隆的理想选择。该酶通过引入延伸增强技术, 在维持高保真性的同时, 实现了延伸速度 10sec/kb 的高速 PCR, 扩增长度可达 20kb。此外, 本产品在兼具高成功率的同时, 对于扩增反应困难的长片段、GC-rich 区域和过量模板 也可以进行扩增。扩增得到的 PCR 产物的 3'端不带有“A”碱基, 可直接克隆于平末端载体中。本产品分为不含 Loading Dye 的标准型 2×Master Mix 和含有 Loading Dye 的 2×Master Mix。

产品特征

1. 可进行高速 PCR

扩增 1kb 以下的目的片段时, 延伸时间可设为 10sec。扩增 1-10kb 的目的片段时, 延伸时间可 设为 20-30sec/kb。相比以往试剂可大幅度缩短 PCR 的反应时间。

2. 高保真性

保真性约为 Taq DNA polymerase 的 100 倍, 长目的片段也可以迅速且高保真性地扩增, 扩增产 物可用于多种用途。

3. 简便

本试剂中包含所有除引物、模板以外的其他 PCR 组分, 便于操作的同时也提高了实现结果的 重 现性。另外, 2×Super Pfx Master Mix (Dye) 中含有 Loading Dye, 反应 结束后, 可直接点样 进行凝胶电泳。

注意事项

带有尿嘧啶的引物和模板不适用于本产品。

使用说明

上海阿拉丁生化科技股份有限公司

电话: 400-620-6333

PCR 反应体

1. 反应液制备前，请将试剂完全融解、混匀后再使用

组分	25 μ L 反应体系	50 μ L 反应体系	终浓度
2 \times Super Pfx Master Mix	12.5 μ L	25 μ L	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	1-1.25 μ L	2-2.5 μ L	0.4-0.5 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	1-1.25 μ L	2-2.5 μ L	0.4-0.5 μ M
Template DNA	可变量	可变量	基因组 DNA~500ng /50 μ L 质粒或病毒~50ng /50 μ L cDNA(RNA相当量)~750ng/50 μ L
ddH ₂ O	Up to 25 μ L	Up to 50 μ L	

• 组分添加完后请混合均匀并迅速转移到 PCR 仪里。

• 引物终浓度推荐为 0.4-0.5 μ M，但扩增 10kb 以上的长片段时，引物终浓度为 0.3 μ M 可提高扩增产物量。

PCR 反应程序

1. 反应液制备前，请将试剂完全融解、混匀后再使用

步骤	温度	时间	循环数
预变性 ¹⁾	98 $^{\circ}$ C	30sec	/
变性	98 $^{\circ}$ C	5-10sec	25-35 个循环
退火 ²⁾	根据引物 T _m 定	10-30sec	25-35 个循环
延伸 ³⁾	72 $^{\circ}$ C	20-30sec/kb	25-35 个循环
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5min	/

注意

1) 预变性：对于多数纯化后的模板，98 $^{\circ}$ C，30sec 即可；对于复杂模板可延长预变性时间，不超 3min。

2) 退火：一般实验中退火温度比引物 T_m 低 3-5 $^{\circ}$ C，发生非特异性反应时，适当提高退火温度。如果需要，可以建立一个温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度。对于高 T_m 的引物，可以使用两步循环，将退火和延伸合并为一步。

3) 延伸：对于复杂的基因组样本，延伸时间通常为 20-30sec/kb，但对于简单模板(质粒、大肠杆菌等)或 <1kb 的复杂模板，延伸时间可缩短至 10sec/kb。如果需要，cDNA 或 >6kb 的复杂模板，延伸时间可以增加到 40-50sec/kb