

产品概述

2x Super-Fidelity Master Mix 是一款即用型 2×高保真 PCR 预混液,采用基经因工程改造的热启动型高保真 DNA 聚合酶,具有极高的 DNA 亲和力和连续合成能力,对复杂模板和部分降解模板均有很好的兼容能力,保真性约为 Taq 酶的 154 倍。试剂中添加了独特的延伸因子、特异性促进因子,使其在长片段扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。

使用简单模板如 λ DNA、质粒等, 2x Super-Fidelity Master Mix 可以有效扩增长达 30 kb 的片段;使用基因组 DNA 等复杂模板, 2x Super-Fidelity Master Mix 可以扩增长达 20 kb 的片段。此外, 2x Super-Fidelity Master Mix 对 PCR 抑制剂,具有良好的抵抗能力,可用于细菌、真菌、植物组织或全血样品的直接 PCR。

本产品 Mix 已包含热启动型高保真 DNA 聚合酶、dNTP 以及优化的缓冲体系,只需加入引物和模板即可进行扩增,减少了移液操作,提高了检测通量和结果的重现性;本产品同时含有电泳指示剂版本,可在 PCR 反应完成后直接点样进行电泳。可轻松实现基因簇克隆、超长片段组装等实验。

产品信息

产品名称	货号	规格
2x Super-Fidelity Master Mix (Dye Plus) 2x 高保真扩增预混液	BR3M121-79	0.1ml
	BR3M121-71	1ml
	BR3M121-72	5×1ml
	BR3M121-74	15×1ml
2x Super-Fidelity Master Mix 2x 高保真扩增预混液	BR3M121-09	0.1ml
	BR3M121-01	1ml
	BR3M121-02	5×1ml
	BR3M121-04	15×1ml

保存条件

-20±5℃存储。

适用范围

本产品适用于基因组 DNA、cDNA、质粒以及粗品为模板的 PCR 反应。

注意事项

1. 本产品仅用作科研用途。
2. 请勿使用 dUTP 和带有尿嘧啶的引物和模板。
3. DNA 聚合酶经单克隆抗体修饰,反应体系可于常温配置,但建议在使用前置于冰上,使用后及时置于冰箱保存。
4. 扩增>10Kb 的片段时,推荐引物长度>26nt,引物设计需满足一般原则。

使用方法

1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂室温或冰面上解冻后混匀，瞬时离心。按照表 1 配置反应液：

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
模板 ^a	X	
2x Super-Fidelity Master Mix	25	1×
Primer1 (10μM)	1	0.1-0.4μM ^b
Primer2 (10μM)	1	0.1-0.4μM
ddH ₂ O	up to 50	\
Total	50	\

a.不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50 μl 体系推荐模板使用量：

模板种类	模板使用量
基因组 DNA	50 - 400 ng
质粒或病毒 DNA	10 pg - 30 ng
cDNA	1 - 5μl (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)
粗品模板 ^c	建议加入 1 - 2μl

b.一般情况下，引物终浓度投入 0.2μM 即可，当出现非特异扩增时，减少引物终浓度至 0.1μM 可提高特异性。

c.如果是全血样本，建议在 PCR 反应体系中加入 1%-2%的全血模板，在 pcr 程序预变性时间需调整到 5min,PCR 反应结束后，4000rpm 离心 1min 以沉淀血细胞碎片，取上清进行下游分析；如果是真菌，细菌，动植物组织样本推荐用裂解液进行细胞裂解，再进行 PCR 反应。

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

2. PCR 扩增程序

2.1 根据表 2 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序：

表 2. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
预变性	98°C	30s ^d	1
变性	98°C	15s	
退火	56-72°C ^e	15s	25~35
延伸	72°C	5-15s/Kb ^f	
完全延伸	72°C	3-5min	1
保温	4°C	∞	1

- d.对于大多数模板,预变性设置为 30s。若模板 GC 含量过高,可延长至 1min。
- e.请根据引物 T_m 值设置退火温度。如引物 T_m 值相对较高,可删除退火步骤,使用 2 步法 PCR 扩增程序(使用两步法时,退火延伸温度可在 65℃-68℃之间优化)。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。此外,退火温度直接决定扩增特异性。如发现扩增特异性差,可适当提高退火温度。
- f.扩增 5 kb 以下的目的片段时,延伸时间可设为 5 sec/Kb;扩增 5~15 kb 的目的片段时,延伸时间可设为 10 sec/Kb;扩增 15kb 以上目的片段时,延伸时间可设为 15 sec/Kb;若扩增后浓度较低,可适当提高引物浓度或者提高延伸时间。