

2×SuperDi Max PCR Mix with Loading Dye

2×SuperDi Max 含染料预混 PCR 反应体系

货号：DN1088-10

保存：-20℃

运输：2~8℃

| 货号 | 规格 |
|------------|-----------|
| DN1088-试用装 | 0.2 ml |
| DN1088-05 | 1 ml x 5 |
| DN1088-10 | 1 ml x 10 |

【产品概述】

本产品为即用型超保真 PCR 试剂，包括 2 x SuperDi Max PCR mix、5 x PCR Enhancer。具有 5' → 3' DNA 聚合酶活性和 3' → 5' 的外切酶活性(即校读活性)，其保真度约相当于普通 Taq DNA 聚合酶的 80 倍。扩增速度视模板复杂程度约为 2-4 kb/min。对于λDNA 模板可以保证 20 kb 的扩增长度，基因组模板可达到 10 Kb。本产品的模板兼容性好，30%-70%GC 含量的目的片段均可良好扩增。对于高 GC 基因或长片段基因的扩增，建议加入 PCR Enhancer 以得到更好的扩增结果。本产品适用于核酸的超保真 PCR 扩增，如基因克隆、高通量测序、定点突变等。使用含染料的产品在 PCR 反应完成后，不需添加上样缓冲液即可直接上样进行电泳；也可经过纯化处理，用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

【产品特点】

- 1. 快速简便：延伸速度约为 15-30 s/kb，不要超过 1 min/kb。
- 2. 保真性高：保真性相当于 Taq 酶的 80 倍。
- 3. 扩增片段长：以质粒和 λ DNA 为模板的扩增长度可达 20 kb；基因组模板的扩增长度可达 10kb。
- 4. 扩增能力强：适用于复杂模板、高 GC 模板及较长片段的扩增。

【保存条件】

-20℃恒温保存 24 个月，避免反复冻融。

【产品组分】

2 x Super Di Max PCR Mix (Dye)
5 x PCR Enhancer
ddH₂O

【使用方法】

用户需自备的试剂：DNA 模板、引物。

注意：每管组分应仔细混匀并离心后开启，所有 PCR 操作过程应在冰上进行。

操作示例：以 50μl PCR 反应体系为例

1. PCR 反应体系的建立：

| | |
|-------------------------------|------------|
| DNA 模板 ^a | X μl |
| 2 x SuperDi Max PCR Mix (Dye) | 25 μl |
| 正向引物 (10 μM) | 2.5 μl |
| 反向引物 (10 μM) | 2.5 μl |
| 5 x PCR Enhancer ^b | 10 μl (可选) |
| ddH ₂ O | 补足至 50 μl |

*模板量：不同模板的推荐使用量（50 μl 反应体系）

| 模板种类 | 模板量（≤10 Kb） | 模板量（≥10 Kb） |
|------------|------------------------------|---------------|
| 质粒或λDNA 模板 | 1 pg- 10 ng | 100 pg-20 ng |
| 基因组 DNA | 20 ng-300 ng | 100 ng-500 ng |
| cDNA | 1-2 μl（不超过 PCR 反应总体积的 1/ 10） | - |

^b 在扩增高 GC、长片段时建议加入 PCREnhancer，可有效提高扩增效率及特异性；如扩增结果不理想，也可尝试加入 PCREnhancer。

2. PCR 反应程序设置

三步法程序（常规程序）：

| 流程 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-------|--------|-----------|------------|
| 预变性* | 98℃ | 3 min | } 25-35 循环 |
| 变性 | 98℃ | 15 s | |
| 退火** | 50-72℃ | 15 s | |
| 延伸*** | 72℃ | 30 s/kb | |
| 终延伸 | 72℃ | 5- 10 min | |

在进行长片段或者一些复杂模板扩增时，如果常规程序不能进行有效扩增，推荐使用以下梯度温度退火程序：

| 流程 | 温度 | 时间 | 循环数 |
|-------|--------|-----------|------------------|
| 预变性* | 98℃ | 3-5min | } 15 循环，每个循环降 1℃ |
| 变性 | 98℃ | 20 s | |
| 梯度退火 | 70-55℃ | 30 s | |
| 延伸*** | 72℃ | 30 s/kb | |
| 变性 | 98℃ | 20 s | } 20 循环 |
| 退火 | 55℃ | 30 s | |
| 延伸*** | 72℃ | 30 s/kb | |
| 终延伸 | 72℃ | 5- 10 min | |

*预变性：对于大多数模板，推荐使用的初始预变性温度为 98℃，预变性时间为 3 min。当扩增目的片段≥10 Kb 时，可降低预变性温度至 95℃，并延长预变性时间至 5-10 min。

**退火：请根据引物 Tm 值设置退火温度。如有需要，可设温度梯度去摸索最佳的引物退火温度。退火温度与扩增特异性相关，可通过适当地提高退火 温度来提高扩增特异性。退火时间可在 10-30 s 之间进行调节，退火时间过长可能会导致琼脂糖凝胶电泳条带呈弥散状，因此，一般模板按照推荐的 15 s 设置即可，对于一些扩增困难的复杂模板可适当延长退火时间。

***延伸：SuperDi 高保真 DNA 聚合酶扩增时延伸速度约为 15-30 s/kb，不要超过 1 min/kb。应根据扩增产物的长度和模板的复杂性设置相应 的延伸时间，复杂性较低时（例如：质粒、λ DNA）可用 15 s/kb 的延伸时间；复杂性较高的基因组 DNA 模板，延伸时间则应为 30-60 s/kb；对于 有些 cDNA 模板，延伸时间可以增加至 40 s/kb。适当延长延伸时间可以提高产物产量。

3. 结果检测：取 2-5 μl 反应液电泳观察结果。含染料产品可直接上样电泳，无染料产品需添加上样缓冲液后进行电泳。

【注意事项】

1. 本产品扩增后的 PCR 产物经过纯化后，可直接与平末端载体连接，如 Zero pFAST-Blunt Simple Cloning Kit，（Cat# DT124-01）。如果需要与线性 T 载体连接，可进行纯化后，对 PCR 产物的 3'端添加 A 碱基。
2. 高质量的模板可以提高扩增的成功率和产量，尤其当进行长片段扩增时，建议使用新鲜的高质量模板；另外，当扩增效率较低时，可适量提高模板量；长片段扩增可通过设计长引物进行。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。