



2×Super Pfx Master Mix

Cat. No. CW2965

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 (CWBIO#CW2965) 和含有Loading Dye的2×Master Mix (CWBIO#CW2969)。

保存条件： -20℃保存。

产品内容

Component	CW2965S 1mL	CW2965M 5mL
2×Super Pfx Master Mix	1mL	5×1mL
ddH ₂ O	1mL	5×1mL

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) (Cat. No. CW2969)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

PCR反应体系

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×Super Pfx Master Mix	12.5 μ L	25 μ L	1×
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°C	30sec	} 25-35个循环
变性	98°C	5-10sec	
退火 ²⁾	根据引物T _m 定	10-30sec	
延伸 ³⁾	72°C	20-30sec/kb	
终延伸	72°C	5min	

注意:

- 1) 预变性: 对于多数纯化后的模板, 98°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°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, 延伸时间可以增加至40-50sec/kb。

产品详细说明书请登录康为世纪官网www.cwbio.com搜索“CW2965”查看