



2×Super Pfx MasterMix

目录号：CW2965S (1 ml)
CW2965M (5 ml)

保存条件：-20℃。如需频繁使用，可存放于2-8℃。

产品内容

Component	CW2965S	CW2965M
	1 ml	5 ml
2×Super Pfx MasterMix	1 ml	5×1 ml
ddH ₂ O	1 ml	5×1 ml

产品简介

本品为由Super Pfx DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂组成的预混体系，浓度为2×。Super Pfx DNA Polymerase是一种快速、高扩增效率的高保真DNA聚合酶，该聚合酶具有5'-3'DNA聚合酶活性和3'-5'外切酶活性，扩增能力强，扩增速度快（4-6 kb/min），保真度高，克服了普通Pfu酶扩增能力差、产量低和扩增速度慢的缺陷，极大地缩短了反应时间。MasterMix的配方使整个反应体系非常稳定，适用于各种片段模板的扩增，可最大限度地减少人为误差和污染。本品不含染料，PCR程序结束后可根据需要加入适量上样缓冲液后进行电泳操作。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，如需进行T/A克隆，需在PCR产物末端添加“A”后进行克隆。

质量控制

经检验无外源核酸酶活性，能有效地扩增各种模板；2-8℃存放一个月，无明显活性改变。

使用方法

以下举例为常规PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ l 反应体系	终浓度
2 \times Super Pfx MasterMix	25 μ l	1 \times
Forward Primer, 10 μ M	2.5 μ l	0.5 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	2.5 μ l	0.5 μ M
Template DNA	适量	<250 ng/50 μ l
ddH ₂ O	up to 50 μ l	

2. PCR反应条件

步骤	温度	时间	} 25-35 个循环
预变性	98 $^{\circ}$ C	30 s-3 min	
变性	98 $^{\circ}$ C	5-10 s	
退火	45-72 $^{\circ}$ C	10-30 s	
延伸	72 $^{\circ}$ C	4-6 kb/min	
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5-10 min	

注意：

- 1) 变性：简单模板预变性98 $^{\circ}$ C，30 s-1 min，对于比较复杂的模板，预变性时间可延长至3 min。
- 2) 退火：一般实验中退火温度比引物的熔解温度T_m低3-5 $^{\circ}$ C，如无法得到理想的扩增效率时，应梯度改变退火温度，进行优化，发生非特异性反应时，适当提高退火温度。对于T_m高的引物可以使用两步法PCR。
- 3) 延伸：延伸时间应根据所扩增片段的长度和模板复杂程度设定，本产品扩增效率为4-6 kb/min，对复杂性低的模板可达到6 kb/min。
- 4) 循环次数：可根据扩增产物的下游应用设定循环数，如果循环次数太少，扩增量不足，循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重，所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途