



2×SuperNova Max PCR Mix (Dye)

2×SuperNova Max 超保真 PCR 预混液（染料）

版本号: V250101

货号: A066
 保存: -20°C
 运输: 低温

| 货号 | 规格 |
|---------|---------|
| A066-01 | 1 ml |
| A066-05 | 1 ml×5 |
| A066-10 | 1 ml×10 |

【产品概述】

本产品为即用型 2×超保真 PCR 预混试剂，包括 2×SuperNova Max 超保真 PCR 预混液、5×PCR Enhancer。使用的 SuperNova 超保真 DNA 聚合酶是在 pfu 基础上优化的超保真 DNA 聚合酶。具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和 3'→5' 的外切酶活性，其保真度约相当于普通 *Taq* DNA 聚合酶的 80 倍；具有极高的扩增效率，延伸速度约为 15-30 s/kb；具有超强长片段扩增能力，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强，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 以得到良好结果。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。

本产品含染料（紫红色），PCR 反应完成后可直接上样进行电泳，紫红色染料可指示电泳进程；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】

- 保真度高：保真度是 *Taq* DNA Polymerase 的 80 倍。
- 延伸速度快：延伸速度约为 15-30 s/kb，不要超过 1 min/kb。
- 长片段扩增能力：对于 λDNA 模板有效扩增长度 20 kb。
- 模板兼容性宽：30%-70%GC 含量的目的片段均可良好扩增。

【产品组分】

| 组分货号 | 组分名称 | A066-01 | A066-05 | A066-10 |
|-----------|-------------------------------|---------|---------|---------|
| ZA066-101 | 2×SuperNova Max PCR Mix (Dye) | 1 ml | 1 ml×5 | 1 ml×10 |
| ZA066-102 | 5×PCR Enhancer | 400 μl | 1 ml×2 | 1 ml×4 |
| ZA129-101 | Sterile Water | 1 ml | 1 ml×5 | 1 ml×10 |

【保存条件】

-20°C 保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。

【使用方法】

- PCR 反应体系推荐（以 50 μl PCR 反应体系为例）
所有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。

从低温取出后，2×SuperNova Max PCR Mix (Dye) 管底可能会析出沉淀，属于正常现象，请充分解冻混匀后使用。

| 组分 | 体积 |
|----------------------------------|-----------|
| DNA 模板 ^a | X μl |
| 正向引物 (10 μM) | 2.5 μl |
| 反向引物 (10 μM) | 2.5 μl |
| 2×SuperNova Max PCR Mix (Dye) | 25 μl |
| 5×PCR Enhancer ^b (可选) | 10 μl |
| Sterile Water | 补足至 50 μl |

注：以上举例为常规 PCR 反应系统，仅供参考。实际反应条件因模板、引物等的结构不同而各异，需根据模板、引物、目的片段的特点设定最佳反应条件，并根据比例放大或缩小反应体系。



^a 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 PCR Enhancer，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 PCR Enhancer。

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 ^c | 98°C | 3 min | |
| 变性 | 98°C | 15 s | |
| 退火 ^d | 50-72°C | 15 s | 25-35 循环 |
| 延伸 ^e | 72°C | 30 s/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 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 ^c | 98°C | 3-5min | |
| 变性 | 98°C | 20 s | |
| 梯度退火 | 70-55°C | 30 s | 15 循环，每个循环降 1°C |
| 延伸 ^e | 72°C | 30 s/kb | |
| 变性 | 98°C | 20 s | |
| 退火 | 55°C | 30 s | 20 循环 |
| 延伸 ^e | 72°C | 30 s/kb | |
| 终延伸 | 72°C | 5-10 min | |

^c 预变性：对于大多数模板，推荐使用的初始预变性温度为 98°C，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°C，并延长预变性时间至 5-10 min。

^d 退火：请根据引物 T_m 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。

^e 延伸：SuperNova 超保真 DNA 聚合酶扩增时延伸速度约为 15-30 s/kb，不超过 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、λDNA）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，如果需要与线性 T 载体连接，可对纯化后的 PCR 产物 3'端添加 A 碱基。推荐使用 GenStar EZ-TA/Blunt 零背景 pTOPO II 克隆试剂盒（Cat# T185），可兼容平末端或带 3'-A 的 PCR 产物克隆连接反应。
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。