

## 2×High-GC SuperStar PCR Mix with Loading Dye

### 2×含染料 High-GC SuperStar 预混 PCR 反应体系

版本号: V190701

货号: A054-10  
保存: -20°C  
运输: 低温

货号	规格
A054-01	1 ml x 1, 含染料
A054-05	1 ml x 5, 含染料
A054-10	1 ml x 10, 含染料

#### 【产品概述】

本产品为预混的含有优化浓度的 SuperStar 超保真 DNA 聚合酶、dNTPs、Mg<sup>2+</sup>、高 GC 反应缓冲液以及稳定剂等成分的即用型 2 倍浓度的 PCR 溶液, 适用于对保真性要求高的复杂 DNA 片段的快速扩增, 如基因克隆、定点突变、SNP 分析等, 也可用于 DNA 片段的末端补平。本产品具有快速简便、灵敏度高、稳定性好等优点, 使用时只需加入 DNA 模板和引物, 并用水补足体积, 可最大限度地减少人为误差、节约时间、降低污染几率。PCR 产物无 3'端突出碱基, 不可直接用于 TA 克隆。

SuperStar 超保真 DNA 聚合酶是一种混合酶, 具有 5'→3' DNA 聚合酶活性和 3'→5'的外切酶活性(即校读活性), 能够纠正 DNA 扩增过程中产生的碱基错配现象, 在高 GC 缓冲液中其保真度约相当于普通 *Taq* DNA Polymerase 的 23 倍、*Pfu* DNA Polymerase 的 3 倍。该酶还具有快速的 DNA 合成速度, 其合成速度约相当于普通 *Taq* DNA Polymerase 的 4 倍、*Pfu* DNA Polymerase 的 8 倍。

本产品有含染料(红色, Cat# A054)和不含染料(无色, Cat# A055)两种选择。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, 以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

#### 【产品组分】

组分名称	规格
2xHigh-GC SuperStar PCR Mix with Loading Dye	1 ml x 10
ddH <sub>2</sub> O	1 ml x 10
100% DMSO	600 μl

2xHigh-GC SuperStar PCR Mix 含有 3.0 mM MgCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> 在反应体系中的终浓度为 1.5 mM。

#### 【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 24 个月, 避免反复冻融。

注: 如保存温度长期低于 -30°C 或遇干冰急冻, 本产品颜色会变浅直至变黄(与急冻程度相关)。经测试, 该变化不影响使用效果。

#### 【注意事项】

- SuperStar 超保真 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、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 s/kb; 对于有些 cDNA 模板, 延伸时间可以增加至 40 s/kb。
- 用 SuperStar 超保真 DNA 聚合酶扩增时, 当引物长度大于 20 个碱基, 复性温度为 T<sub>m</sub>+3°C; 当引物小于 20 个碱基, 复性温度为最低的 T<sub>m</sub> 值。建议使用引物终浓度为 0.5 μM, 如果需要可在 0.2-1.0 μM 之间, 比 *Taq* 酶高。
- SuperStar 超保真 DNA 聚合酶具有极高的热稳定性, 变性温度可以高于 98°C。我们推荐大多数模板的初始变性温度是 98°C, 变性时间为 30 s。
- SuperStar 超保真 DNA 聚合酶的 PCR 产物经过纯化后, 可直接与经去磷酸化的平末端目标载体连接, 也可先连接到线性平末端克隆载体上(如 EZ-Blunt Blunt-end Ligation Kit, Cat# T170), 再经亚克隆转移至目标载体。如果需要与线性 T 载体连接, 应先纯化去除 SuperStar High-Fidelity DNA Polymerase 后, 再对 PCR 产物的 3'端添加 A 碱基, 加 A 反应可使用 EZ-T A-Tailing Kit (Cat# T173)。

### 【使用方法】

用户需自备的试剂：DNA 模板、引物、ddH<sub>2</sub>O。

每管样品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 50 μl PCR 反应体系为例

#### 1. 按照下表配制 PCR 反应体系

组分	体积
DNA 模板*	X μl
正向引物 (10 μM)	2.5 μl
反向引物 (10 μM)	2.5 μl
2xSuperStar PCR Mix** (Dye+)	25 μl
(DMSO***, 可选)	1.5 μl
ddH <sub>2</sub> O	补足至 50 μl

#### 2. PCR 反应循环的设置

流程	温度	时间	
预变性	98°C	30 s	
变性	98°C	5-10 s	} 25-35 循环
退火	45-72°C	10-30 s	
延伸	72°C	15-30 s/kb	
终延伸	72°C	5-10 min	

\* 模板量：50-1000 ng 基因组 DNA，1-30 ng 质粒，或 1-2 μl RT-PCR 反应后的 cDNA。

\*\* 更高保真度扩增可选择使用 2xSuperStar PCR Mix (Cat# A052, A053)。

\*\*\* 高 GC 含量扩增时建议加入 DMSO，但低 GC 含量或模板大于 20 kb 的扩增不建议加入 DMSO。

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。

#### 3. 结果检测：取 2-5 μl 反应液电泳观察结果。

### 【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。