



## 2×SuperNova Max PCR Mix

### 2×SuperNova Max 超保真 PCR 预混液

版本号: V231201

货号: A067

保存: -20°C

运输: 低温

货号	规格
A067-01	1 ml
A067-05	1 ml×5
A067-10	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。

本产品不含染料(无色), 在 PCR 反应完成后, 需添加上样缓冲液后进行电泳; 也可经过纯化处理, 以用于酶切、连接、荧光测序等后续操作。

#### 【产品特点】

1. 保真度高: 保真度是 *Taq* DNA Polymerase 的 80 倍。
2. 延伸速度快: 延伸速度约为 15-30 s/kb, 不要超过 1 min/kb。
3. 长片段扩增能力: 对于λDNA 模板有效扩增长度 20 kb。
4. 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	A067-01	A067-05	A067-10
ZA067-101	2×SuperNova Max PCR Mix	1 ml	1 ml×5	1 ml×10
ZA067-102	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】

1. 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 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 <sup>a</sup>	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	25 μl
5×PCR Enhancer <sup>b</sup> (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。



<sup>a</sup> 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)	-

<sup>b</sup> 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。

#### 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 <sup>c</sup>	98°C	3 min	
变性	98°C	15 s	
退火 <sup>d</sup>	50-72°C	15 s	25-35 循环
延伸 <sup>e</sup>	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 <sup>c</sup>	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 <sup>e</sup>	72°C	30 s/kb	
变性	98°C	20 s	
退火	55°C	30 s	20 循环
延伸 <sup>e</sup>	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5-10 min	

<sup>c</sup> 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。

<sup>d</sup> 退火：请根据引物 T<sub>m</sub> 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。

<sup>e</sup> 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。

2. 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。