

2 x M9 Ultra Super Mix (Dye Plus)

货号: Cat.No: M7005-U Size: 5 X 1ml

产品介绍

本产品为基于基因改造技术的超高保真DNA聚合酶，具备快速扩增、超高保真性（保真度为普通Taq酶的200倍以上）和高效持续合成能力，耐受PCR抑制剂，在1–15 sec/kb的延伸速度下仍保持高扩增效率与特异性，显著缩短反应PCR时间。超高保真 DNA 聚合酶结合高封闭率抗体，可在PCR变性前抑制酶活性，防止非特异性扩增和引物降解，提升灵敏度与得率。其极强的3'→5'外切酶活性进一步增强保真性，适用于分子克隆、高通量测序、定点突变等高精度PCR实验。本产品为2× SuperMix，含dNTPs、Mg²⁺、优化缓冲液、增强剂及稳定剂，只需加入模板、引物和水至1×浓度即可反应。扩增产物为平端，可直接用于无缝克隆。内含红色电泳指示剂，迁移速率相当于1%琼脂糖凝胶中1.5 kb的双链线性DNA，可在PCR反应完成后直接点样电泳。

适用范围:

1. 超高保真 PCR 快速扩增，平端克隆，无缝克隆实验，基因定点突变
2. 低丰度模板、复杂模板或富含 GC/AT 模板的扩增
3. 长片段扩增
4. 高通量测序文库构建

产品特色

- 显著缩短 PCR 操作时间
- 优化的缓冲液，可用于低丰度模板、复杂模板或富含 GC/AT 模板的扩增
- 基因组 DNA 片段的扩增(≥20 kb)
- Plasmid DNA 片段的扩增(≥20 kb)
- 热启动，高特异性、高灵敏度和得率

操作说明

推荐 PCR 体系（以 50ul 反应体系为例）

名称	体积	终浓度
2 X M9 Ultra Super Mix (Dye Plus) ^a	25 ul	1 X
10 μM Forward Primer	1.5 ul	0.3 uM
10 μM Reverse Primer	1.5 ul	0.3 uM
PCR-grade Water	As Required	-
Template ^b	As Required	As Required
总体积	50ul	-

a.使用时彻底融化、混匀。

b.不同模板最佳反应浓度有所不同，下表为 50 ul 体系推荐的模板用量:

模板种类	模板起始量
基因组 DNA	10 - 500 ng
质粒 DNA	10 pg - 20 ng
病毒 DNA	10 pg - 20 ng
cDNA 或粗提物	1 - 5 ul (不超过 PCR 反应总体积的 1/10)

PCR 条件

Step	Temperature	Duration	Cycles
Initial Denaturation	98°C	30 sec	1
Denaturation	98°C	10 sec	25-35
Annealing ^c	60°C	30 sec	
Extension ^d	68°C	15 sec/kb	
Final Extension	68°C	5 min	1

c. 退火温度可在 55-65°C 之间优化

d. 延伸时间的设定可参考：

模板种类	模板起始量
≤ 2 kb	1-5 sec/kb
≤ 6 kb	10- 15 sec/kb
>6 kb	15 -20 sec/kb

如无 PCR 扩增产物或需提高产物量，请适当延长延伸时间

保存条件

-20 保存，有效期 24 个月。（注：本产品低温运输或冻存过程可能会形成少量黄色液体，属正常现象，可在室温短时间放置后，颠倒混匀即可完全消除）

常见问题与解决方案

➤ 无产物或产物量少

- 1) 重复实验避免加样错误
- 2) 优化引物设计
- 3) 设置退火温度梯度，优化合适的退火温度
- 4) 使用高纯度模板并适当增加模板用量
- 5) 适当增加延伸时间 或 增加循环数至 35 - 40 个循环
- 6) 增加 Mg²⁺ 浓度至 3-4mM

➤ 有非特异性扩增产物或弥散条带

- 1) 设置退火温度梯度，优化合适的退火温度
- 2) 降低引物浓度至终浓度为 0.2 μM
- 3) 优化引物设计
- 4) 适当减少延伸时间 或 减少扩增循环数至 25 - 30 个循环
- 6) 使用高纯度模板并适当减少模板用量