



## 2×Super Flash Master Mix

Cat. No. CW2977

### 产品简介

2×Super Flash Master Mix包含Super DNA Polymerase、独特的延伸因子、dNTP以及高性能的缓冲体系，只需加入引物和模板即可进行PCR反应。Super DNA Polymerase是经过精心突变的热启动、高保真DNA聚合酶，该酶具有5'-3'DNA聚合酶活性和3'-5'外切酶活性，扩增能力强，延伸速度快，特异性好。

本产品适用于长短片快速PCR扩增，1kb以内延伸速度可达1s/kb，大幅节省PCR反应时间，同时兼具一定的保真性和高产量的独特优点，其保真性约为Taq DNA聚合酶的80倍。扩增产物为平末端，对粗样品也具有优异的扩增性能。

**保存条件：**-20℃保存。

### 产品内容

Component	CW2977S 1mL	CW2977M 5mL
2×Super Flash Master Mix	1mL	5×1mL
ddH <sub>2</sub> O	1mL	5×1mL

## 使用说明

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。

### PCR反应体系

所有操作请在冰上进行，组分解冻后请充分混匀，用完之后请及时放回-20°C保存。

组分	25 $\mu$ L反应体系	终浓度
2 $\times$ Super Flash Master Mix	12.5 $\mu$ L	1 $\times$
Forward Primer, 10 $\mu$ M	0.5-1 $\mu$ L	0.2-0.4 $\mu$ M
Reverse Primer, 10 $\mu$ M	0.5-1 $\mu$ L	0.2-0.4 $\mu$ M
Template DNA	适量	< 500ng
ddH <sub>2</sub> O	up to 25 $\mu$ L	/

### PCR反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	30s-3min <sup>1)</sup>	} 30-35个循环 <sup>4)</sup>
变性	98°C	10s	
退火	根据引物T <sub>m</sub> 定 <sup>2)</sup>	10s	
延伸	72°C	1-20s/kb <sup>3)</sup>	
终延伸	72°C	5min	

注意:

- 1) 预变性: 质粒DNA、 $\lambda$ DNA、简单基因组DNA等模板的预变性时间可设置为30s-1min, 对于粗样品、高GC、人基因组等复杂的模板, 预变性时间可延长至3min。
- 2) 退火: 2 $\times$ Super Flash Master Mix中含有较高离子浓度, 反应退火温度可设置高于理论引物T<sub>m</sub>值2-3°C, 如无法得到理想的扩增效率时, 可梯度改变退火温度, 进行优化; 发生非特异性反应时, 适当提高退火温度。
- 3) 延伸: 根据其目的片段长度设置延伸时间, 参考下表

目的片段长度	建议延伸时间
< 1kb	1-2s/kb
1-5kb	2-5s/kb
5-10kb	5-10s/kb
> 10kb	10-20s/kb

4) 循环数: 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, 所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。

## 常见问题与解决方案

### 1、无扩增产物或扩增产物浓度低

- 1) 可适当提高引物浓度;
- 2) 设置梯度退火, 找到合适退火温度;
- 3) 适当增加延伸时间或增加PCR循环数;
- 4) 调整模板使用量或使用高纯度模板。

### 2、非特异较多或条带弥散

- 1) 尝试提高退火温度;
- 2) 适当降低引物浓度;
- 3) 减少循环数;
- 4) 调整模板使用量或使用高纯度模板;
- 5) 优化引物设计。