2× SEAC High-Fidelity PCR Mix (Dye)

SEAC 2× 超保真 PCR 预混液（含染料）

产品信息 / PRODUCT INFORMATION

货号	SEAC-A064		
保存	−20℃	运输	低温

包装规格 / PACKAGING

1 mL	SEAC-A064-01
1 mL × 10	SEAC-A064-10

产品概述 / Overview

本产品为即用型 2×超保真 PCR 预混试剂，含有 超保真 DNA 聚合酶、dNTPs、Mg^{2+}、缓冲液等成分。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（即校读活性），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，其反应速度视模板复杂程度约为 15-30 s/kb； 具有超强的模板适应能力和扩增能力，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。2× 超保真 PCR 预混液（含染料）内已添加扩增促进因子，无需额外添加 PCR Enhancer，使用时只需加入 DNA 模板和引物，并用水补足体积即可，最大限度地减少人为误差和降低污染几率。具有快速简便、灵敏度高、稳定性好等优点。适用于超保真扩增，快速扩增，如基因克隆、高通量测序、定点突变等。

本产品含染料（紫红色），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，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 / Features

01 保真度高：保真度是 Taq DNA Polymerase 的 80 倍。

02 延伸速度快：延伸速度约为 15-30 s/kb，不超过 1 min/kb。

03 长片段扩增能力：对于λDNA 模板有效扩增长度 20 kb。

04 应用广泛：适用于复杂模板扩增、基因克隆、高通量测序、定点突变等。

产品组分 / Components

组分货号	组分名称	SEAC-A064-01	SEAC-A064-10
SEAC-A064-101	2× 超保真 PCR 预混液（含染料）	1 ml	1 ml×10
SEAC-A064-102	无菌水	1 ml	1 ml×10

保存条件 / Storage

-20℃保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。

使用方法 / Instructions

01 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× 超保真 PCR 预混液（含染料）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 *	X μl
正向引物（10 μM）	2.5 μl
反向引物（10 μM）	2.5 μl
2× 超保真 PCR 预混液（含染料）	25 μl
无菌水	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。

SEAC 2× 超保真 PCR 预混液（含染料）

SEAC-A064 / TECHNICAL PRODUCT INSERT

使用方法 / Instructions

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）	-

02 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 [a]	98°C	3 min	
变性	98°C	15 s	25–35 循环
退火 [b]	50–72°C	15 s	
延伸 [c]	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 [a]	98°C	3–5 min	
变性	98°C	20 s	第一阶段：第 1–15 循环
递降退火	70→56°C，每循环降 1°C	30 s	
延伸 [c]	72°C	30 s/kb	
变性	98°C	20 s	第二阶段：第 16–35 循环（20 次）
恒温退火	55°C	30 s	
延伸 [c]	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5–10 min	

a 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。

b 退火：请根据引物 Tm 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。

c 延伸：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，延伸时间可以增加到 40 s/kb。适当延长延伸时间可以提高产物产量。

03 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 / Notes

01 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。可选用兼容平末端或带 3’-A 产物的克隆试剂盒。

02 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的模板；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 / Disclaimer

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。