

2×T5 Super PCR Mix (Basic)

■ 目录号

TSE008

■ 产品简介

本产品中含有的T5 DNA Polymerase是新型DNA聚合酶,由经过改造的Taq DNA聚合酶融合Sso7d DNA-Binding结构域而来,具有极高的扩增速度与稳定性。本产品特别添加特异性增强因子SuperPrime及延伸增强因子Extension Enhancer,扩增产量与特异性均显著提高,优化的反应缓冲液可减少扩增条件探索,极大地节省时间。

本产品为2×浓度的快速扩增PCR预混液,使用时只需添加模板、引物,并补水至1×浓度即可进行反应。产品中包含上样缓冲液,扩增产物无需额外添加Loading Buffer即可直接点样电泳。本产品扩增产物3'端为混合末端,若纯化后用于T/A克隆,推荐使用平末端克隆试剂盒(目录号:TSV-007B)。

■ 产品组成

组分	规格
2×T5 Super PCR Mix (Basic)	5×1.0 mL

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

■ 产品应用

适用于常规PCR扩增、高通量PCR扩增。

■ 产品特点

- 超快的延伸速度:快速扩增型T5 DNA Polymerase,延伸速度达10~15 s/kb;
- 极强的耐热性:98°C热处理1 h酶活性无明显变化;
- 优异的稳定性:优化的反应缓冲液,扩增高效、稳定;
- 对于脏模板具有很好的耐受性。

■ 使用方法

1.推荐PCR反应体系

组分	25 μL体系	50 μL体系	终浓度
2×T5 Super PCR Mix(Basic)	12.5 μL	25 μL	1×
10 μM 上游引物	1 μL	2 μL	0.4 μM
10 μM 下游引物	1 μL	2 μL	0.4 μM
模板DNA ^a	见标注	见标注	
ddH ₂ O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

a.模板推荐量:

- 试剂盒提取的基因组DNA,推荐模板用量为50~200 ng;
- CTAB法提取的基因组DNA,推荐模板用量为100~500 ng;
- 质粒和噬菌体模板,推荐模板用量为0.05~1 ng;
- cDNA模板,推荐将反转录产物原液稀释5~10倍后,取1 μL作为模板。

过量的模板会导致非特异性扩增,过少的模板易导致PCR扩增效率低。

02

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

2.推荐PCR反应程序

组分	温度	时间	循环数
预变性	98°C	3 min	1
变性	98°C	10 s	30~35 ^c
退火 ^a	Tm+3~5°C	10 s	
延伸 ^b	72°C	10~15 s/kb	
终延伸	72°C	1~5 min	1
保存	4~12°C	∞	

- a.退火温度:参考引物Tm值,建议退火温度设置为引物中Tm较小值+3~5°C;
- b.延伸时间:延伸速度为10~15 s/kb时可以满足大部分模板扩增需要,若模板为复杂模板或者模板纯度较低,可以将延伸时间增加至30 s/kb;
- c.扩增循环数:30个循环可满足大部分扩增需要,循环数过多易导致非特异性扩增增加,但若扩增条带较弱,可将循环数增加至35~40个。

■ 注意事项

- 请使用高质量模板。
- 请勿使用dUTP和含有尿嘧啶的引物与模板。
- PCR Mix应避免反复冻融,短期内多次使用可置于2~8°C保存。使用前,Mix解冻后应充分混匀。

03

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

常见问题与解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
无产物或产物量少	引物退火效率低	重新设计引物或从5'端加长引物
	退火温度不合适	设置退火温度梯度(推荐以2°C为梯度),得到合适的退火温度
	引物浓度过低	适当提高引物浓度
	延伸时间过短	增加延伸时间至30 s/kb
	循环数过低	增加循环数至35~40个循环
	模板降解或用量不合适	确保模板质量良好,同时可根据模板种类设置模板用量梯度,得到最合适的用量
存在非特异性扩增或条带弥散	引物特异性差	重新设计高特异性引物
	退火温度不合适	设置退火温度梯度(推荐以2°C为梯度),得到合适的退火温度
	延伸时间过长或过短	可根据非特异条带大小调整延伸时间,若杂带小于目的片段,可适当增加延伸时间,若杂带大于目的片段,可适当减少延伸时间
	循环数过高	适当降低循环数
	模板用量过多	减少模板用量或将模板稀释10倍后扩增
阴性对照扩增出条带	环境或气溶胶污染	使用Trelief® Solution核酸清洁液(目录号:TSP001)对操作环境及空气进行清洁处理
	PCR体系污染	使用无菌耗材,及时更换枪头

保存条件

-25°C~-15°C保存,保质期2年,干冰运输。

技术支持

公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:

product@tsingke.com.cn.

