

## GoldenStar® T6 Super PCR Mix Ver.2 (1.1×) 金牌Mix Ver.2

### ■ 目录号

TSE102

### ■ 产品简介

金牌Mix Ver.2是金牌Mix (Green) (目录号:TSE101)的升级版,其中包含的DNA Polymerase由基因工程改造GoldenStar T6 DNA Polymerase所得,该聚合酶由Pyrococcus酶与一种具有增强持续合成能力的结构域融合而成,其扩增错配率是野生型Taq DNA聚合酶的1/30。本产品中添加了独特的解抑制因子,配合优化后的反应缓冲液,使得其在扩增不同类型模板时表现出很好的兼容性。本产品同时具有5'→3'DNA聚合酶活性和3'→5'外切酶活性,扩增产物为平末端,适用于基因克隆等对保真性要求较高的实验。

本产品包含DNA Polymerase、dNTPs以及优化的反应缓冲液,浓度为1.1×,使用时无需额外添加双蒸水补充体系,只需加入引物和模板即可进行扩增。产品中包含上样缓冲液,不包含核酸染料,扩增产物无需额外添加Loading Buffer即可直接点样电泳。

### ■ 产品组成

组分	规格
1.1×金牌Mix Ver.2	5 × 1.125 mL

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

### ■ 产品应用

适用于基因组、cDNA、噬菌体、质粒等DNA模板的扩增,可用于基因克隆等对保真性要求较高的实验。

### ■ 产品特点

- 极强的扩增能力与保真性;
- 添加特异性增强因子,扩增产物具有高特异性;
- 适用于高GC模板的扩增。

### ■ 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
1.1×金牌Mix Ver.2 <sup>a</sup>	22 μL	45 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 <sup>b</sup>	1 μL	1 μL	

a. 推荐使用50 μL扩增体系;金牌Mix Ver.2用量至少占总反应体积的80%。

b. 模板推荐量:

试剂盒提取的基因组DNA: 50~200 ng;

CTAB法提取的基因组DNA: 100~500 ng;

质粒和噬菌体: 0.05~1 ng;

cDNA: 推荐将反转录产物原液稀释5~10倍后,取1 μL作为模板。

如果模板浓度较低,模板用量可在1~3 μL范围内调整。

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

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	2 min	1
变性	98°C	10 s	30~35 <sup>c</sup>
退火 <sup>a</sup>	Tm+3~5°C	10~15 s	
延伸 <sup>b</sup>	72°C	20 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20 s/kb时可以满足大部分模板扩增需要,若模板复杂,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;
- 本产品不推荐用于菌落或菌液扩增,如有需要推荐使用我公司菌P专用PCR Mix(目录号:TSE005);
- 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。

### ■ 保存条件

-25~-15°C保存,保质期2年,干冰运输。

## ■ 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,引物降解	适当增加引物用量或重新合成引物
	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

### ■ 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。

