达领生物

2×T8 High-Fidelity Master Mix
T8高保真PCR预混液

目录号

DLP201

产品简介

本产品含有的T8 DNA Polymerase是经过基因工程改造的DNA聚合酶，具有高保真性及超高的扩增速度与稳定性。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，配合使用优化后的反应缓冲液，扩增效果大大提高。本产品中还添加了独特的解dUTP抑制因子，反应体系中含有dUTP也能够正常扩增。

本产品为2×浓度的PCR预混液，已包含合适浓度的Mg^{2+}、酶和dNTPs，使用时只需添加模板、引物，并补水至1×浓度即可进行反应。扩增完成后，可取适量扩增产物与Loading Buffer按比例混合后，进行电泳检测。本产品扩增产物为平末端，若纯化后用于TA克隆推荐使用平末端克隆试剂盒（目录号：DLV101，DLV103）。

产品组成

组分	规格
2×T8 High-Fidelity Master Mix	5 × 1.0 mL

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。

产品特点

- 高成功率；
- 高产量；
- 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；
- 反应体系中掺入dUTP也能正常扩增。

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
2×T8 High-Fidelity Master Mix	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_2O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

a. 模板推荐量：

试剂盒提取的基因组DNA：50~100 ng；

CTAB法提取的基因组DNA：100~500 ng；

质粒：5~100 ng；

噬菌体：0.5~3 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；

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。

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[d]
退火[b]	Tm+3~5°C	10 s	
延伸[c]	72°C	15 s/kb	
终延伸	72°C	1~5 min	1
保存	4~12°C	∞	

b. 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；

c. 延伸时间：常规模板推荐设置为15 s/kb，复杂模板可以将延伸时间增加至20~30s/kb；

d. 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T5菌P专家（目录号：DLP102）；
- PCRMix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。

保存及运输条件

-25~-15°C保存，保质期2年。≤0°C运输。

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

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

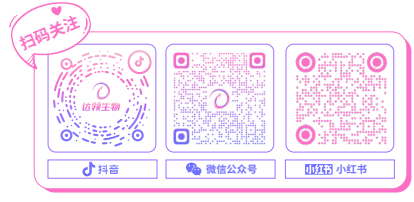
关联产品推荐

产品名称	货号	应用
FlashPure快速质粒小提试剂盒	DLN702	适用于1~5 mL菌液质粒DNA快速提取
DNA凝胶回收试剂盒（安全便捷型）	DLN801	适用于从琼脂糖凝胶或PCR产物中回收多至10 μg DNA
pClone007通用型TA克隆试剂盒	DLV103	适用于平、黏末端TA克隆
Trelief®无缝克隆试剂盒	DLV201	适用于无缝克隆与定点突变等实验
Trelief® 5α感受态细胞	DLC101	适用于常规克隆、蓝白斑筛选等实验

技术支持

本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。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。



地址：鄂州市葛店开发区建设大道216号东湖高新智慧城7栋
1.1.1.P201.2411