

2×T8 Plus High-Fidelity Master Mix

T8 Plus 高保真 PCR 预混液

目录号

DLP203

产品简介

本产品是 2×T8 High-Fidelity Master Mix 的升级版本。与上一代产品相比，新一代产品中添加了独特的延伸因子和特异性促进因子，使其在长片段扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。本产品中添加了独特的 dUTP 抗抑制因子，显著提升 cDNA 样本的扩增能力及模板耐受性。本产品具有 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 2×，只需加入引物和模板后加无菌水补充体系即可进行扩增。

产品组成

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

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

- ◆ 扩增能力强；
- ◆ PCR 产物产量高；
- ◆ 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。

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 Plus High-Fidelity Master Mix ^a	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 ^b	见标注	见标注	
ddH ₂ O	Up to 25 μL	Up to 50 μL	

a. 推荐使用 25 μL 扩增体系；

b. 模板推荐量：

对于试剂盒提取的基因组 DNA，推荐模板用量为 50~100 ng；

对于 CTAB 法提取的基因组 DNA，推荐模板用量为 100~500 ng；

对于质粒模板，推荐模板用量为 5~100 ng；

对于噬菌体模板，推荐使用量为 0.5~1 ng

对于 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。

2. 推荐 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98℃	2 min	1
变性	98℃	10 s	30~35°
退火 ^a	T _m ℃	10 s	
延伸 ^b	72℃	15 s/kb	
终延伸	72℃	5 min	1
保存	4℃	∞	

- a. 退火温度:参考引物 T_m 值,建议退火温度设置为引物中 T_m 较小值+3~5℃;
- b. 延伸时间:延伸速度为 15 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 20 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: DLP102);
- ◆ PCR Mix 应避免反复冻融,短期内多次使用可置于 4℃ 保存。使用前, Mix 解冻后应充分混匀。

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℃ 为梯度),得到合适的退火温度

存在非特异性扩增 或条带弥散	引物浓度过低 延伸时间过短	适当提高引物浓度 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
	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℃ 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
阴性对照扩增出条 带	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
	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℃~-15℃ 保存,保质期 2 年,≤0℃ 运输。

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。

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	DLV103	适用于平、黏末端的 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®5a感受态细胞	DLC101	适用于常规克隆、蓝白斑筛选等实验

说明书版本号

1.1.1.P203.2504

