

2×T5 Super PCR Mix (Colony) Ver.2

T5 菌 P 专家 Ver.2

目录号

DLP103

产品简介

2×T5 Super PCR Mix (Colony) Ver.2 是 2×T5 Super PCR Mix (Colony) 的升级版。本产品为 2×浓度的快速扩增 PCR 预混液，其反应缓冲液针对菌落/菌液 PCR 优化，是 PCR 鉴定实验的理想选择。本产品包含合适浓度的 Mg^{2+} 、T5 DNA 聚合酶和 dNTPs，使用时只需添加模板和引物，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'端为粘末端，若纯化后用于 TA 克隆，推荐使用黏末端 TA 克隆试剂盒(目录号:DLV102)。

产品组成

组分	规格
2×T5 Super PCR Mix (Colony) Ver.2	5 × 1.0 mL

产品应用

- ◆ 适用于克隆鉴定实验。

产品特点

- ◆ 扩增能力强；
- ◆ 超快的延伸速度：快速扩增型 T5 DNA Polymerase，延伸速度达 10 s/kb；

- ◆ 极强的耐热性：98°C 热处理 1h 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。

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 (Colony) Ver.2	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；

菌液：推荐用量为 1~3 μL；

菌落：推荐直接挑取单菌落置于反应液中或将菌落溶解于 10~20 μL 无菌水中，吸取 1~2 μL 为模板。

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	25~30
退火 ^a	Tm+3~5°C	10 s	
延伸 ^b	72°C	10~15 s/kb	
终延伸	72°C	7 min	1
保存	4°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 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 15~30 s/kb。

3. 扩增产物鉴定

扩增产物可直接进行琼脂糖凝胶电泳，无需添加 Loading Buffer。

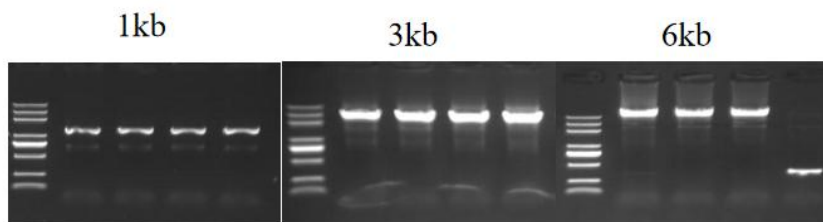
注意事项

- ◆ 若样品为革兰氏阳性菌、真菌等难裂解样品时，可通过碱裂解等方法进行样品预处理，以促进 DNA 释放，提高扩增成功率；
- ◆ PCR Mix 应避免反复冻融，短期内多次使用可置于 2~8℃ 保存。使用前，Mix 解冻后应充分混匀。

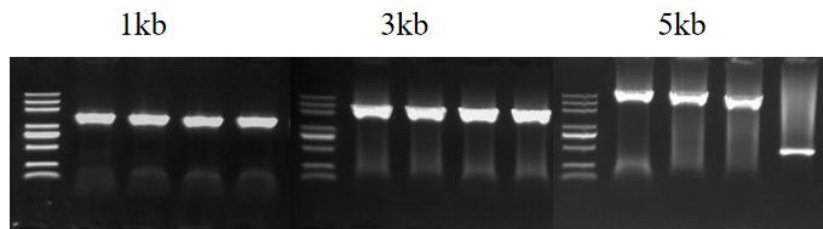
应用示例

以大肠杆菌为模板的菌落/菌液 PCR

A. 以含有 pET28a 载体(分别插入 1 kb、3kb、6kb 目的片段) 的 BL21(DE3) 菌株。PCR 扩增结果如下图：



B. 以含有 pcDNA3.1 载体(分别插入 1 kb、3kb、5kb 目的片段) 的 BL21(DE3) 菌株。PCR 扩增结果如下图：



保存条件

-25℃~ 15℃保存，保质期 2 年，≤0℃运输。

常见问题及解决方案

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
	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
存在非特异性扩增或条带弥散	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
	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

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
T 载体菌检试剂	DLP601	适用于 TA 克隆菌落鉴定实验
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® 5α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.P103.2505

