

V5 Colony Direct PCR Mix (T Vector) T载体菌检试剂

目录号

DLP601

产品简介

本产品为即用型TA克隆快速直扩预混液，产品中所含的T5 DNA Polymerase由改造的Taq DNA聚合酶融合Sso7d DNA-Binding结构域得来。本产品包含DNA聚合酶、dNTPs、优化的缓冲液和通用引物M13F-47与M13R-48，适用于包含该引物位点的TA克隆载体鉴定实验，仅需添加模板即可进行反应。产品中包含上样缓冲液与电泳指示剂，不含核酸染料，扩增产物无需额外添加Loading Buffer即可直接电泳。

产品组成

组分	规格
V5 Colony Direct PCR Mix (T Vector)	5×1.0 mL

产品应用

本产品适用于TA克隆载体鉴定实验(如pClone007、pUC、pMD、pEASY等系列载体)。

产品特点

- 优秀的延伸速度:10 s/kb;
- 强大的耐热性能: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;
- 便捷的操作性能:即用型,预混通用引物M13F-47与M13R-48,无需额外添加ddH₂O与引物。

使用方法

1. 推荐PCR反应体系

组分	25 μL体系	50 μL体系
V5 Colony Direct PCR Mix (T Vector)	25 μL	50 μL
模板DNA ^a	见标注	见标注

a. 模板

菌液:吸取1~3 μL的菌液作为模板;

菌落:用枪头挑取单菌落置于反应液中,或将挑取的单菌落溶解于10~20 μL的无菌水中,吹打混匀后取1~3 μL的菌液作为模板。

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
退火	60°C	10 s	
延伸	72°C	10 s/kb	1
终延伸	72°C	2 min	
保存	4~12°C	∞	

3. 引物序列

M13F-47: 5'-CGCCAGGGTTTCCCAAGTACACGAC-3'

M13R-48: 5'-AGCGGATAACAATTCACACAGGA-3'

保存及运输条件

-25~-15℃保存, 保质期2年。≤0℃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	杂菌污染(如卫星菌落、相同抗性的原始质粒污染)	重新挑取菌落或重新克隆(避免菌落培养时间过久); 当目的片段由质粒模板扩增所得时, PCR产物需经DpnI酶切消化去除原始质粒
	模板降解	菌液放置过久导致质粒丢失, 请使用新鲜培养的菌落或菌液
	模板用量不合适	设置模板用量梯度, 得到最合适的用量
	延伸时间过短	片段较长时, 可适当增加延伸时间
	循环数偏低	可适当增加循环数至30~35
存在非特异性扩增或条带弥散	产生质粒全长的副产物	调整延伸时间为5 s/kb
	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后扩增
阴性对照扩增出条带	环境或水溶液污染	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

关联产品推荐

产品名称	货号	应用
TS-GelRed核酸凝胶染料 Ver.2(10,000×水溶液)	TSJ003	适用于琼脂糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶中dsDNA、ssDNA和RNA的染色
DL5000 DNA Marker	TSJ012	适用于作为琼脂糖凝胶电泳中双链线状DNA分子量大小参照
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
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。

