



2.5×TFS Master Mixture

目录号：CW3311S (1 mL)

保存条件：-20℃，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW3311S
	1 mL
2.5×TFS Master Mixture	1 mL
ddH ₂ O	1 mL

产品简介

2.5×TFS Master Mixture是一款适用于各种类型多重PCR的预混体系，浓度为2.5×，包含DNA聚合酶、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺以及稳定剂和增强剂等成分，操作简便快速。

2.5×TFS Master Mixture包含的DNA聚合酶是一种经基因工程改造的重组酶，具有5'→3'DNA聚合酶活性，无5'→3'外切酶活性；DNA聚合酶经过新型抗体修饰，为抗体修饰热启动酶，能够有效减少在常温条件下由引物和模板非特异性结合或引物二聚体而产生的非特异性扩增，同时具有激活时间短、扩增能力强、灵敏度高、稳定性好等优良特点。独特的PCR缓冲体系与热启动酶的组合，显著提高了PCR的扩增效率，灵敏度更高，抑制物耐受性更强。

该产品应用范围广，不仅适用于普通和染料法实时荧光定量PCR，更适用于法医多重STR扩增反应，可用于法医学分析、亲权鉴定以及科研等人类遗传鉴定方面。

注意事项

1. 使用前请在本品完全融化后上下颠倒轻轻混匀，并经短暂离心后使用。
2. 避免反复冻融本品，反复冻融可能使产品性能下降。本品可置于-20℃长期保存。

使用方法

以下举例为STR检测反应体系和反应条件，实际操作中应根据具体用途、模板、引物结构、目的片段大小和扩增效果不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

提取DNA扩增反应体系：

试剂	10 μL体系	25 μL体系	终浓度
2.5×TFS Master Mixture	4 μL	10 μL	1×
5×Primer Mix ¹⁾	2 μL	5 μL	1×
Template DNA ²⁾	X μL	X μL	
ddH ₂ O	Up to 10 μL	Up to 25 μL	

血卡直扩反应体系:

试剂	10 μ L体系	25 μ L体系	终浓度
2.5 \times TFS Master Mixture	4 μ L	10 μ L	1 \times
5 \times Primer Mix	2 μ L	5 μ L	1 \times
血卡样本大小	1.0 mm	1.2 mm	
ddH ₂ O	Up to 10 μ L	Up to 25 μ L	

注意:

- 1) 引物设计时, 应尽量减小各引物的T_m间的差值, 差值尽量控制在5 $^{\circ}$ C以内。扩增效率不高的情况下, 可提高引物浓度; 发生非特异性扩增时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。为达到最优扩增效果, 建议引物混合物使用前涡旋震荡10 s短暂离心后使用。
- 2) 通常DNA模板的量以0.1 ng-1 ng人基因组DNA为参照, 可根据扩增效果调整模板投入量, 以确定最佳的模板使用量。
- 3) 操作过程中应避免人源基因组污染, 推荐实验时设置一组阴性对照(无DNA)。

2. PCR反应程序

步骤	温度	时间	循环
预变性	95 $^{\circ}$ C	5 s-2 min	1
变性	95 $^{\circ}$ C	5 s	} 28-31 ⁴⁾
退火、延伸	55-65 $^{\circ}$ C ¹⁾	90-150 s ²⁾	
终延伸	60 $^{\circ}$ C	10-40 min ³⁾	

注意:

- 1) 推荐采用两步法PCR反应程序。若因引物T_m值较低或引物间T_m值相差较大等原因, 得不到良好的实验结果时, 可尝试使用三步法PCR扩增, 退火温度请以55 $^{\circ}$ C-65 $^{\circ}$ C的范围作为设定参考(退火温度通常比T_m值低5 $^{\circ}$ C), 延伸温度设置为72 $^{\circ}$ C。
- 2) 当得不到良好的扩增效果时, 可适当延长退火、延伸时间至120 s-150 s。
- 3) 当PCR产物检测出现加A不完全时, 可适当延长终延伸时间至30-40 min。
- 4) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数, 如果循环次数太少, 扩增量不足, 推荐循环数为28-31个循环。
- 5) 血卡直扩可根据实际扩增效果增加72 $^{\circ}$ C裂解步骤以提高扩增效率。
- 6) 当使用ABI 9700热循环仪时, 请在MAX模式下进行扩增。
- 7) PCR产物可置于2-8 $^{\circ}$ C短期保存, 也可置于-20 $^{\circ}$ C长期保存。