货号：STR501-T13

5×STR Premix (T13)

2023V01

产品概述

STR Premix (T13) 是一种具有优良特异性的 STR 扩增试剂，不但适用于经过核酸提取纯化模板的多重扩增，而且对全血、血卡、拭子等类型样本所含抑制物具有很好的抗性，适用于此类样本不经核酸提取纯化的直接加样 STR 多重扩增。

试剂组成

5×STR Premix (T13)

*本试剂已含有热启动酶、PCR Buffer、dNTPs、$MgCl_2$、稳定剂等成分。

保存条件

-20°C长期保存，4°C可保存 3 个月。使用前应混匀，避免反复冻融。

PCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	终浓度
5×STR Premix (T13)	5 μL	1×
5×Primer Mix [1]	5 μL	1×
Template [2]	——	——
Nuclease-free water	To 25 μL	——

1. STR 多重引物 5×Primer Mix：预先混合所有扩增引物，使每条引物在 5×Primer Mix 终浓度为 0.5 μM。
2. STR 模板量需配合循环数优化：经过提取纯化的 DNA 0.5~1 ng/25μL 体系；全血、血卡、拭子、发根等样本量需具体优化。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
热启动	94°C	5 min	1
变性	94°C	10 s	28~29
退火*	58~62°C	30 s	
延伸	72°C	10 s	
加 A 尾	60°C	10 min	1
——	4°C	Hold	——

*退火条件建议根据梯度实验优化而定。

质量控制

1. 功能检测：PCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

常见问题及解答

1. 扩增产物少或没有扩增。

(1) 建议使用高质量的引物。

(2) 增加 PCR 循环数。

(3) 降低退火温度，必要时进行退火温度梯度尝试。退火时间建议在 30~60 s 之间调整；多重扩增时，引物越多越需要适当延长退火时间。

(4) 延长延伸时间，在 30~60 sec/kb（按照最大片段算）之间调整，但一般不超过 60 sec/kb；过长延伸时间可能增加非特异扩增的概率。

(5) 检查单对引物的扩增性能和特异性。

(6) 产物过长时建议重新设计引物，产物长度不应超过 1 kb。

(7) 提高低产或缺失扩增子引物使用量。

(8) 当多重扩增中含有高 GC 片段时，应设计各引物的 Tm 相近，优选在 65~72°C；反应退火温度在 60~68°C调整。

2. 存在非特异性扩增。

(1) 减少退火和延伸的时间。

(2) 减少循环数。

(3) 提高退火温度。

(4) 减少引物使用量。

(5) 优化引物设计。