

M5 HiPer Multiplex PCR MasterMix (UNG)

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Multiplex PCR MasterMix (UNG)	1ml	MF480-01

【储存条件】

-20°C，尽量避免反复冻融。

【产品简介】

Multiplex PCR MasterMix (UNG) 的浓度为 2×，是由 GoldStar Taq DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs (含 dUTP)、UNG 酶以及 PCR 稳定剂等组成的 PCR 预混体系。使用本产品无需进行繁杂的 PCR 反应条件的优化过程，只需进行简单的条件摸索即可轻松进行多重 PCR 反应。

本产品所含的 GoldStar Taq DNA Polymerase 是经化学修饰的热启动酶，可以有效减少 PCR 反应初期因引物错配而产生的非特异扩增。独特的缓冲体系，使多重 PCR 反应所有的引物都能有效延伸，无需额外优化。此 MasterMix 中还包含 GC Enhancer，有助于实现“困难”模板（比如，高 GC 含量的模板）的高效扩增。本产品运用 dUTP-UNG 防污染系统，可有效去除了 PCR 产物的残留污染，大大降低了由于扩增产物污染而导致的假阳性。UNG 酶在 PCR 循环中的预变性步骤即可被灭活，因此不会影响新的含 dU 碱基 PCR 产物的形成

Multiplex PCR MasterMix (UNG) 可有效防止 PCR 产物的残留污染，适用于防污染多重 PCR 反应，比如微卫星分析、基因分型和 SNP 检测等。

【质量控制】

经检验无外源核酸酶活性；PCR 方法检测无宿主残余 DNA；2-8°C 存放 3 天，扩增性能无明显改变。

【操作步骤】

以下举例为常规 PCR 反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR 反应体系：

试剂	50 μ l 反应体系	终浓度
Multiplex PCR MasterMix (UNG)	25 μ l	1×
Primer Mix, 10 μ M each	1 μ l	0.2 μ M
Template DNA	适量	
ddH ₂ O	up to 50 μ l	

注意：引物设计时，尽量减小各引物的 T_m 间的差值，差值尽量控制在 5°C 以内。各引物浓度请以终浓度 0.05-0.2 μ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性扩增时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

2. PCR 反应条件:

步骤	温度	时间
UNG 酶消化	50°C	2-10 min
预变性	95°C	10 min
变性	95°C	30 s
退火	55-65°C	30 s
延伸	72°C	60 s / kb
终延伸	72°C	5 min

注意:

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C, 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 由此优化反应条件。
 - 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定, 本产品中所包含的 GoldStar Taq DNA Polymerase 的扩增效率为 1 kb/min。
 - 3) 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; 如果循环次数太多, 错配机会增加, 非特异性背景严重。所以, 在保证产物得率的前提下, 应尽量减少循环次数。
3. 结果检测: 本产品不含染料, 反应结束后, 取 5 μ l 反应产物加入适量上样缓冲液后进行电泳检测结果。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。