

Multiplex PCR Mastermix 使用说明书

| 产品名称 | 单位 | 货号 |
|---------------------------|-------|----------|
| 2xMultiplex PCR Mastermix | 1ml | MF075-01 |
| 2xMultiplex PCR Mastermix | 5×1ml | MF075-05 |

【储存条件】

长期保存，请置于-20°C，有效期 24 个月。经常使用，可置于 2-8°C 保存至少六个月。

【产品简介】

Multiplex PCR MasterMix，是由GoldStar DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂等组成的预混体系。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。本品中所含的GoldStar 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。酶的激活须在95°C下孵育10分钟此酶与能提高反应特异性的PCR增强剂以及独特的缓冲体系相配合，使反应体系中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。Multiplex PCR MasterMix适用于各种类型的多重PCR反应，比如微卫星分析、基因分型和SNP检测等。

【产品组份】

| 产品名称 | MF075-01 | MF075-05 |
|----------------------------------|----------|----------|
| 2xMultiplex PCR Mastermix | 1ml | 5x1ml |
| Nuclease-free ddH ₂ O | 1ml | 5x1ml |

【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存放三个月，活性无明显改变。

【所需试剂】

使用者仅需准备 PCR 反应的模板、引物和蒸馏水等。

【使用方法】

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。

按下表配制 PCR 反应体系

| 试剂 | 50 μl反应体系 | 终浓度 |
|---------------------------|-------------|--------|
| 2×Multiplex PCR MasterMix | 25 μl | 1× |
| Primer Mix, 10 μM each | 1 μl | 0.2 μM |
| Template DNA | 适量 | |
| ddH ₂ O | up to 50 μl | |

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 μM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。

建议的 PCR 条件

| 步骤 | 温度 | 时间 | |
|-----|---------|----------|-------------|
| 预变性 | 95°C | 10 min | |
| 变性 | 95°C | 30 s | } 30-40 个循环 |
| 退火 | 55-65°C | 30 s | |
| 延伸 | 72°C | 1 kb/min | |
| 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溶解温度 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 DNA Polymerase的扩增效率为1-2 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, 错配机率会增加, 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。
- 4) 本产品预变性 95°C, 10 min 条件下实现酶的活化。



【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。