

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 2x, 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 \times
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。