

# 多重PCR试剂盒

## Multiplex PCR Kit

Code No. AG12308

**包装量:** 50 rxns / 50  $\mu$ l

**保存温度:**  $-20^{\circ}\text{C}$ 

### 产品概述

本制品是用于多重PCR反应的试剂盒，能在一个PCR反应体系中，对多个基因同时进行检测，适用于2 kb以下DNA片段的多重PCR扩增。Multiplex DNA Polymerase 缺乏野生型Taq的5'  $\rightarrow$ 3' 核酸外切酶活性，具有高度灵敏，高扩增效率，高特异性等特点。此外，本制品中还添加了在常温状态下能够抑制DNA Polymerase活性的单克隆抗体，可以进行Hot Start PCR，有效抑制引物二聚体的形成及非特异性扩增。

### 保存

 保存温度:  $-20^{\circ}\text{C}$ 

 运输温度: 干冰或者  $-20^{\circ}\text{C}$  冰袋运输

### 活性定义

在74 $^{\circ}\text{C}$ 、30分钟内，以活性化的大马哈鱼精子DNA作为模板/引物，将10 nmol 脱氧核苷酸摄入到酸不溶物质所需的酶量。

### 产品组成

Multiplex DNA Polymerase (1U / $\mu$ l)	50 $\mu$ l
2X Multiplex PCR Buffer( $\text{Mg}^{2+}$ and dNTP plus )	1.25 ml

### 注意事项

1. 产品中 Multiplex DNA Polymerase 甘油浓度较高，使用前短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液枪轻轻吸打混匀，过程中尽量避免起泡，然后再进行使用。
2. 试剂盒中的各组分均需要在  $-20^{\circ}\text{C}$  保存，使用前于冰上溶解，轻柔混匀后再进行使用。
3. 反应体系需要在冰上配制，配制完后放进PCR仪中进行反应。

### 实验操作

 反应体系 (50  $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
Multiplex DNA Polymerase (1U / $\mu$ l)	1U <sup>1</sup>	1 $\mu$ l
2X Multiplex PCR Buffer ( $\text{Mg}^{2+}$ and dNTP plus)	1 X	25 $\mu$ l
Primer F (100 $\mu$ M) <sup>2</sup>	0.2 $\mu$ M	0.1 $\mu$ l
Primer R (100 $\mu$ M) <sup>2</sup>	0.2 $\mu$ M	0.1 $\mu$ l
Template <sup>3</sup>	100 ng	-
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

\*1: 通常酶的加入量为1U，如扩增结果不理想可尝试提升酶量，酶量可在1U ~ 2U 之间进行调整。

\*2: 通常各引物终浓度为0.2  $\mu$ M 可以得到较好的结果，也可根据具体实验情况在0.1 ~ 0.5  $\mu$ M 范围内调整引物浓度。

\*3: 一般加入100 ng 模板可获得较好的结果；若扩不出条带，可考虑增加模板，在 $\leq$ 500 ng范围内调整。若出现非特异性扩增，可考虑降低模板量，提高特异性。

**反应程序 (以三步法 PCR 扩增为例<sup>\*8</sup>)**

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min <sup>*4</sup>	1
变性	95°C	30 sec	} 30-35 <sup>*7</sup>
退火	60°C <sup>*5</sup>	30 sec	
延伸	68°C	1 min /kb <sup>*6</sup>	
最终延伸	68°C	10 min	1

\*4: 预变性条件95°C 2 min可获得比较好的结果, 对于特别复杂的模板, 如扩增结果不理想, 预变性时间可在2~5 min范围内调整。

\*5: 退火温度主要取决于上下游引物的Tm值, 通常可按照Tm ± 5°C 设定。

\*6: 延伸速度一般根据扩增最长的目的片段, 按照1 min / kb 设置。

\*7: 推荐使用30个循环, 若30个循环扩增效果不好, 可尝试增加 PCR反应循环数至35个循环。

\*8: 当引物 Tm 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好, 可尝试两步法 PCR 扩增 (两步法PCR 反应程序可参考附录)。

**结果检测**

反应结束后, 取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

**附录: 两步法 PCR 反应程序**
**两步法 PCR 反应程序**

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min	1
变性	95°C	30 sec	} 30-35
延伸	68°C	1 min /kb	
最终延伸	68°C	10 min	

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.



Accurate Biotechnology (Hunan) Co., Ltd

