

# 2X 多重PCR预混液 (含染料)

2X Multiplex PCR Master Mix (dye plus)

Code No. AG12309

**包装量:** 50 rxns / 50  $\mu$ l

**保存温度:** -20  $^{\circ}$ C

## 产品概述

本产品是2倍浓度预混型多重PCR反应的制品，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。

本产品中含有电泳所必需的色素试剂，制品溶液呈现紫红色；使用本产品时，只需要在溶液中加入模板、引物和水便可以进行PCR反应；PCR反应后可直接进行电泳，操作便捷，可最大限度地减少人为误差，并在较短时间内即可获得检测结果。此外，本产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 $^{\circ}$ C

运输温度：干冰或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

## 产品组成

2X Multiplex PCR Master Mix (dye plus)

625  $\mu$ l x 2 pc

## 注意事项

- 2X Multiplex PCR Master Mix (dye plus) 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。
- 本产品需要在-20 $^{\circ}$ C保存，使用前于冰上溶解，轻柔混匀后再进行使用。
- 反应体系建议在冰上配制，以减少配制反应液过程中的非特异性扩增。

## 实验操作

反应体系 (50  $\mu$ l)

组分名称	反应终浓度	加入量
2X Multiplex PCR Master Mix(dye plus)	1 X	25 $\mu$ l
Primer F (100 $\mu$ M) <sup>*1</sup>	0.2 $\mu$ M	0.1 $\mu$ l
Primer R (100 $\mu$ M) <sup>*1</sup>	0.2 $\mu$ M	0.1 $\mu$ l
Template <sup>*2</sup>	100 ng	-
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

\*1: 通常引物终浓度为 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。

\*2: 一般加入 100 ng 模板可获得较好的结果；若扩不出条带，可增加模板，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>7</sup>）**

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	2 min <sup>3</sup>	1
变性	95°C	30 sec	} 30-35 <sup>6</sup>
退火	60°C <sup>4</sup>	30 sec	
延伸	68°C	1 min / kb <sup>5</sup>	
最终延伸	68°C	10 min	1

\*3: 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。

\*4: 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。

\*5: 延伸速度一般根据扩增最长的目的片段，按照1 min / kb 设置。

\*6: 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。

\*7: 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.