

NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X

货号/规格: NM1001/40 次, NM1002/400 次, NM1003/2000 次

产品简介

NGS Multiplex PCR Master Mix 是用于高通量测序的 PCR 预混液, 包含多重 PCR 反应所需的各种组分 (引物和模板除外)。其中化学修饰的高保真 DNA 聚合酶具有产物错配率低、特异性好的特点, 从而非常适合进行高通量测序。对于高 GC 含量等难以扩增的模板, 可以搭配使用 GC Enhancer 来提高反应效率。

产品组成

组分	NM1001 (40 rxns)	NM1002 (400 rxns)	NM1003 (2000 rxns)
NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X	1 mL × 1	10 mL × 1	10 mL × 5
GC Enhancer	0.25 mL × 1	2 mL × 1	10 mL × 1

保存条件

未开封前保存于-15℃~-25℃, 至标签所示的有效期。

开封后保存于-15℃~-25℃, 至标签所示的有效期, 或存放于 4℃ 最多 30 天。

GC Enhancer 保存于-15℃~-25℃。

应用举例

注意: 实验开始前, 先准备各引物浓度均为 0.5 μM 的引物混合物 Primer mix。

1. 准备 PCR 反应液

- 于冰上完全融化所有试剂, 反复颠倒混匀, 短暂离心后置于冰上备用。
- 使用 96 孔光学反应板, 将下列物质加入每个反应孔中:

组分	体积/质量	终浓度
NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X	25 μL	1X
Primer mix (0.5 μM each)	5 μL	50 nM each primer ^[1]
Template DNA	0.1–0.2 μg	2–4 ng/μL
GC Enhancer	0 / 6 μL ^[2]	0 / 12%
Nuclease-free water	调整至 50 μL	n/a

[1] 引物终浓度的建议范围: 0.05–0.4 μM。对于大多数反应来说, 0.15 μM 的引物可以得到理想的结果。提高引物浓度至 0.4 μM 可以增加产物的量。

[2] 仅当高 GC 含量的靶标序列无法被高效扩增时需要使用 GC Enhancer。

- 用透明胶膜密封反应板。

2. 扩增 DNA 以供分析

根据分析方法选择扩增程序

2.1 用于琼脂糖凝胶电泳分析的扩增程序

- 按照仪器的用户手册设置运行方法。参考以下参数:

步骤	时间	温度 (°C)
Hold	3 min	95
35 Cycles	30 sec	95
	90 sec	58
	90 sec	72
Hold	5 min	72
Hold	∞	4

- 混匀反应板中的反应液, 并短暂离心。
- 将反应板放入仪器中, 并开始运行。请参阅所用仪器的用户手册, 了解如何使用的详细说明。
- 参阅所用凝胶电泳仪器的用户手册进行结果分析。

2.2 用于 SARS-CoV-2 测序的反应体系和扩增程序:

组分	Reaction 1	Reaction 2
NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X	12.5 μ L	12.5 μ L
Primer Pool 1 (10 μ M)	4 μ L	0
Primer Pool 2 (10 μ M)	0	4 μ L
cDNA	2.5 μ L	2.5 μ L
Nuclease-free water	6 μ L	6 μ L
Total	25 μ L	25 μ L

1. 按照仪器的用户手册设置运行方法。参考以下参数:

步骤	时间	温度 ($^{\circ}$ C)
Hold	3 min	95
	30 sec	95
25-35 Cycles	90 sec	62
	90 sec	72
Hold	5 min	60
Hold	∞	4

2. 混匀反应板中的反应液，并短暂离心。

3. 将反应板放入仪器中，并开始运行。请参阅所用仪器的用户手册，了解如何使用的详细说明。

4. 收集 Reaction 1 和 Reaction 2 的产物，并混匀。

本品仅供科学研究使用。