

# SKa Multiplex PCR Master Mix

## (多重 PCR 试剂盒)

### (货号: KS00250)

#### 产品描述

本产品的 DNA 聚合酶是第二代基因工程酶, 扩增效率比野生 taq 酶高, 并且被抗体修饰, 具有热启动功能, 可减少引物二聚体和非特异性产物。SKa Multiplex PCR Master Mix 是为多重 PCR 实验设计, 包含了 DNA 聚合酶、dNTPs、盐离子。经过精心设计和优化的缓冲液体系, 可用于数百重扩增子的富集, 并适用于 GC 含量高达 70% 的多重基因扩增体系。

#### 特点

扩增效率高、特异性好、稳定性高。

**运输储存条件** -20°C

**有效期** -20°C 保存 1 年。

#### 产品组份

| 组分名称                         | 规格          |
|------------------------------|-------------|
| SKa Multiplex PCR Master Mix | 6.25ml/250T |
| DMSO (二甲基亚砷)                 | 1ml         |

#### 注意事项

1. 本品含有热启动酶, 需注意尽量避免长时间置于室温环境下, 以免酶失活, 试剂失效。
2. 避免试剂反复冻融, 大包装试剂可进行分装保存。
3. 本品可搭配二甲基亚砷 (DMSO) 一起使用, 可具有更高的扩增效率。
4. 本品 1×预混液含有 0.2 mM of each dNTP 和 3 mM MgCl<sub>2</sub>。

## 实验流程

1. 反应体系配制，取出试剂并确保试剂完全溶解和混匀。
2. 按照下表配制反应体系

| 组份                           | 终浓度                     | 25 $\mu$ l 体系( $\mu$ l) | 50 $\mu$ l 体系( $\mu$ l) |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| SKa Multiplex PCR Master Mix | 1 $\times$              | 12.5                    | 25                      |
| Templat DNA                  | -                       | 10ng-100ng              | 10ng-100ng              |
| Primer mix                   | 0.1 $\mu$ M-0.5 $\mu$ M | -                       | -                       |
| Nuclease-free Water          | -                       | Up to 25                | Up to 50                |

注意：可根据实验调整模板 DNA 和引物的浓度，建议每条引物的浓度在 0.1 $\mu$ M-0.5 $\mu$ M 之间。对高 GC 区域进行扩增时可适量加入 DMSO（一般建议在 5-10%之间）。

## 3. PCR 反应条件

| 步骤               | 温度              | 时间          | 循环数                |
|------------------|-----------------|-------------|--------------------|
| 预变性 <sup>a</sup> | 95 $^{\circ}$ C | 3min        | 1                  |
| 变性               | 95 $^{\circ}$ C | 15sec       | 15-35 <sup>d</sup> |
| 退火 <sup>b</sup>  | 60 $^{\circ}$ C | 30sec       |                    |
| 延伸 <sup>c</sup>  | 72 $^{\circ}$ C | 15-90sec/kb |                    |
| 终延伸              | 72 $^{\circ}$ C | 1min        | 1                  |
| 保持               | 10 $^{\circ}$ C | $\infty$    | 1                  |

### 注意：

<sup>a</sup> 对高 GC 的区域（GC 含量大于 70%）进行扩增时，预变性步骤可使用 95 $^{\circ}$ C，5min。

<sup>b</sup> 退火温度与多重 PCR panel 的 T<sub>m</sub> 值相关，可根据实际进行调整，或设置温度梯度确定最优退火温度。

<sup>c</sup> 延伸时间取决于扩增子的数量和大小，可根据下表推荐的延伸时间选择，超多重数(>100)的体系可尝试进一步增加延伸时间：

| 15-30 sec           | 30-60 sec            | 60-90 sec            |
|---------------------|----------------------|----------------------|
| <1 kb 的扩增子，1-5 重    | <1 kb 的扩增子，5-10 重    | <1.5 kb 的扩增子，5-10 重  |
| <500 bp 的扩增子，1-10 重 | <500 bp 的扩增子，10-20 重 | <500 bp 的扩增子，20-50 重 |

<sup>d</sup> 使用的循环数应保持在最低限度，以确保多重扩增子的均匀产量。可从 30 个循环开始尝试，并根据需要进行调整。

4. PCR 产物纯化，请参考 AMPure XP Beads 进行纯化。纯化产物请保存于-20 $^{\circ}$ C冰箱。

5. 如需构建二代测序文库，可使用两步 PCR 法进行。