

NGS Multiplex PCR Master Mix II, 2X

货号/规格: NM2001/40 次, NM2002/400 次, NM2003/2000 次

产品简介

NGS Multiplex PCR Master Mix II 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)。其中化学修饰的超高保真 DNA 聚合酶产物错配率极低、保真性能是 Taq 的 100 倍, 从而非常适合进行肿瘤 ctDNA、MRD 等检测。

产品组成

组分	NM2001 (40 rxns)	NM2002 (400 rxns)	NM2003 (2000 rxns)
NGS Multiplex PCR Master Mix II, 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°C~-25°C, 至标签所示的有效期。

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

GC Enhancer 保存于-15°C~-25°C。

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 II。

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 II, 2X	25 μL	1X

Primer mix II (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:

常规 3 步法:

步骤	时间	温度 (°C)
Hold	1 min	98
	15 sec	98
	30 sec	58
25-35 Cycles	30 sec	72
	2 min	72
Hold	∞	4

2 步法 (引物 T_m > 60°C)

步骤	时间	温度 (°C)
Hold	1 min	98
	15 sec	98
25-35 Cycles	60 sec	60
	2 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 cfDNA 的反应体系和扩增程序：

组分	Reaction 1	Reaction 2
NGS Multiplex PCR Master Mix II, 2X	12.5 μL	12.5 μL
Primer mix II (0.5 μM each)	5 μL	50 nM each primer ^[1]
cDNA	2.5 μL	2.5 μL
Nuclease-free water	6 μL	6 μL
Total	25 μL	25 μL

- 按照仪器的用户手册设置运行方法。参考以下参数：

常规 3 步法：

步骤	时间	温度 (°C)
Hold	1 min	98
25-35 Cycles	15 sec	98
	30 sec	58
	30 sec	72
Hold	2 min	72
Hold	∞	4

2 步法 (引物 T_m>60°C)

步骤	时间	温度 (°C)
Hold	1 min	98
25-35 Cycles	15 sec	98
	60 sec	60
Hold	2 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。

本品仅供科学研究使用。