

DSPATH NGS Multiplex PCR Master Mix

货号/规格: K030-A/80 rxns, K030-B/400 rxns

产品简介

DSPATH NGS Multiplex PCR Master Mix 是用于病原微生物 NGS (高通量测序) 检测文库制备的多重 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)。其中热启动型高保真 DNA 聚合酶具有产物错配率低、特异性好的特点, 适用于高达 1000 的 Panel 重数。同时搭配优化的缓冲体系降低了多种样本干扰物对扩增的抑制, 适用于血液、鼻/咽拭子、病毒培养物等多种样本的 DNA 扩增, 可以快速完成扩增子建库, 且更适应 GC 含量偏高的产物。

产品组成

组分	K030-A	K030-B
	(80 rxns)	(400 rxns)
DSPATH NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X	1 mL	5 mL

保存条件

保存于-20°C。

应用举例

1. 准备 PCR 反应液

1.1 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。

1.2 参照下表进行反应体系配制, 并分装至 PCR 反应管中:

组分	用量	终浓度
DSPATH NGS Multiplex PCR Master Mix, 2X	12.5 µL	1X
Primer Mix	X µL	0.2 µM each primer ^[1]
Input DNA	Y µL	0.1~500 ng/reaction ^[2]
Nuclease-free ddH ₂ O	To 25 µL	-

[1] 单条引物终浓度的建议范围: 0.02-0.2 µM。对于大多数反应来说, 0.2 µM 的引物可以得到理想的结果。

[2] Input DNA 建议投入量范围: 0.1~500 ng。投入量过低有漏检风险, 投入量过高会降低扩增效率。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

2.1 标准反应程序

参考下表设定反应程序, 将 PCR 管放入扩增仪中进行反应:

温度	时间	循环数
95°C	3 min	1
95°C	30 sec	
55°C	90 sec ^[1]	35
72°C	90 sec ^[2]	
72°C	5 min	1
4°C	Hold	1

[1] 退火时间根据 Panel 重数设定, Panel 重数较多时可增加反应时间。

[2] 延伸速率 1kb/min, 延伸时间根据最长片段的长度设定, 且不少于 30 sec。

2.2 快速反应程序

参考下表设定反应程序, 将 PCR 管放入扩增仪中进行反应:

温度	时间	循环数
95°C	3 min	1
95°C	30 sec	
55°C	30 sec	28~35
72°C	30 sec	
72°C	5 min	1
4°C	Hold	1

3. 收集 PCR 产物进行后续操作, 或保存于-20°C 备用。

本品仅供科学研究使用。