



UltraBio™ Multiplex Amplification Mix

FP1508887

储存温度 -20℃ 储存。

产品介绍

UltraBio™ Multiple Amplification Mix 是一款通用型多重扩增试剂，可应用于微生物/遗传突变检测多重扩增文库构建。本试剂兼容超多重扩增，panel 引物重数范围为 1~1500+ 重，扩增长度范围为 100~1800bp，GC 含量范围为 13%~75%，模板投入量低至 1ng。

本试剂原料经过严格的背景菌质控，可有效预防本底扩增导致的假阳性，同时严格的质量控制和功能验证，保证扩增的稳定性和重复性。

本试剂适用于二代测序多重靶向扩增方法微生物/遗传突变检测。

产品组分表

产品号	组分	24T	96T	储存温度
FP1508887	UltraBio™ Multiplex Amplification Mix	60 µL	240 µL	-20℃

自备材料

- 仪器：PCR 仪、移液器、磁力架、微型离心机、涡旋仪、琼脂糖凝胶电泳系统、紫外凝胶成像分析系统、Agilent Bioanalyzer 2100 或替代仪器；
- 试剂：琼脂糖、1×TAE 溶液、核酸染料、DNAMarker、Ampure XP 磁珠或替代产品、无水乙醇(新鲜配置 80%乙醇)、无核酸酶水；
- 耗材：1.5 ml 离心管、0.2 ml PCR 管、移液枪头(无 DNase/RNase)。

使用说明

一、多重扩增及产物检测

1. 将 UltraBio™ Multiplex Amplification mix 取出解冻；涡旋混匀瞬时离心，置于冰上备用。
2. 在 0.2 ml PCR 管中配制如下反应混合液：

组分	体积/ 反应 (μl)	终浓度
UltraBio™ Multiplex Amplification mix	2.5	4×
Primer Mix	1	20nM (2.5~100nM)
模板 DNA	X	10ng (1~100ng)
无核酸酶水	Up to10	/
Total	10	/

注：常规体系 Total 体积为 10μl, 可调整范围为 10~50μl; 当体系体积放大时, UltraBio™ Multiplex Amplification mix 体积需等比例放大。

3. 涡旋混匀, 瞬时离心后将反应液收集至管底。

4. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪, 运行以下反应程序:

Temperature	Time	Cycles
95°C	10min	1
95°C	20s	
T-2°C	2min	
T °C	3min	5
T+2°C	1 min	
72°C	1 min	
<u>95°C</u>	<u>30s</u>	
<u>65-70°C</u>	<u>3min</u>	<u>** 25</u>
4°C	Hold	1

注:

- T: 退火温度需要根据多重引物的退火温度 T 来设定。
 - **: 常规为 25 cycles; 可根据模板投入量适当调整。
5. 第一步扩增产物可用 2 % 琼脂糖电泳检测其产物分布情况或在 Agilent 2100 Bioanalyzer 上进行长度分布检测。

二、扩增产物磁珠纯化

1. 将 AmpureXP 磁珠或替代产品从冰箱中取出平衡至室温, 涡旋混匀。
2. 将第一步扩增产物体积用无核酸酶水补至 50ul, 加入 60 μl(1.2×)磁珠, 充分涡旋混匀

后室温静置 5 min。

3. 短暂离心后将离心管置于磁力架上静置 3~5 min，待溶液澄清后，小心移去上清。
4. 保持离心管置于磁力架上，往管中加入 200 μ l 新鲜配置的 80%乙醇，室温静置 30 sec，小心移去上清。
5. 重复第 4 操作，80%乙醇共洗涤两次。尽量弃 80%乙醇。
6. 保持离心管置于磁力架上，开盖静置 2~3 min 使磁珠干燥至哑光。
7. 加入 22 μ l 的无核酸酶水重悬磁珠，充分涡旋混匀后，室温静置 2 min，将离心管短暂离心后置于磁力架上静置 1~2 min，待溶液澄清后，小心移取 20 μ l 上清至新的 0.2 ml PCR 管中，进行下一步反应。纯化产物可在-20°C 长期保存。