

Gold Multiplex PCR Mix

项目号: G666077

储存条件: -20℃。

产品内容

Component	G666077
	5 ml
2×Gold Multiplex PCR Mix	5×1 ml
ddH ₂ O	5×1 ml

产品简介

Gold Multiplex PCR Mix,是由GoldStar DNA Polymerase、Mg²⁺、dNTPs以及PCR稳定剂和增强剂等组成的预混体系。使用本产品无需进行繁杂的PCR反应条件的优化过程,只需进行简单的条件摸索即可轻松进行多重PCR反应。本品中所含的GoldStar DNA Polymerase是经化学修饰的热启动酶,可以有效减少PCR反应初期因引物错配而产生的非特异扩增。酶的激活须在95℃下孵育10分钟此酶与能提高反应特异性的PCR增强剂以及独特的缓冲体系相配合,使反应体系中所有的引物都能有效延伸,无需额外优化。此MasterMix中还包含GC Enhancer,有助于实现“困难”模板(比如高GC含量的模板)的高效扩增。Gold Multiplex PCR Mix适用于各种类型的多重PCR反应,比如微卫星分析、基因分型和SNP检测等。

质量控制

经检验无外源核酸酶活性;PCR方法检测无宿主残余DNA;2-8℃存放三个月,活性无明显改变。

使用方法

以下举例为常规PCR反应体系和反应条件,实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μl 反应体系	终浓度
2×Gold Multiplex PCR Mix	25 μl	1×
Primer Mix, 10 μM each	1 μl	0.2 μM
Template DNA	适量	
ddH ₂ O	up to 50 μl	

注意：引物设计时，尽量减小各引物的 T_m 间的差值，差值尽量控制在 5°C 以内。各引物浓度请以终浓度 0.05–0.2 μM 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性扩增时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

1. PCR 反应条件

步骤	温度	时间	/
预变性	95°C	10 min	/
变性	95°C	30 s	30–40 个循环
退火	55–65°C	30 s	30–40 个循环
延伸	72°C	1 kb/min	30–40 个循环
终延伸	72°C	5 min	/

注意：

- 1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。
- 2) 延伸时间应根据所扩增片段大小设定，本产品中所包含的 GoldStar DNA Polymerase 的扩增效率为 1–2 kb/min。
- 3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。如果循环次数太少，扩增量不足；如果循环次数太多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以在保证产物得率的前提下应尽量减少循环次数。
- 4) 本产品预变性 95°C，10 min 条件下实现酶的活化。