

## 产品概述

2× Multiplex PCR Master Mix V2 是针对 ptNGS 技术开发的超多重 PCR 扩增试剂，是对 NM201 的升级。适用于 20 - 1000 重 Panel 快速、高特异的多重扩增。2× Multiplex PCR Master Mix V2 多重扩增后的产物经纯化后可应用于后续的文库扩增等实验。

## 产品信息

产品名称	货号	规格
2× Multiplex PCR Master Mix V2 (超多重扩增试剂)	BR3M106-03 BR3M106-06	24T 96T

## 产品组分

组分名称	组分编号	24T	96T
2×MulPCR Buffer II	3M106-A	300μL	1200μL
Multip DNA Polymerase (NA)	3M106-B	24μL	96μL

## 保存条件

-20°C保存。使用前请先混匀，并避免反复冻融。

## 使用方法

### 1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂室温或冰面上解冻后，颠倒或用手指轻弹混匀后瞬时离心，置于冰上备用。  
按照表 1 配制反应液：

表 1 PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
DNA 模板	X	0.1ng-500ng/反应
Primer mix <sup>a</sup>	X	
2×mulPCR Buffer II	12.5	
Multip DNA Polymerase(NA) <sup>b</sup>	0.5-1	
ddH2O	up to 25	
Total	25	

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心将管壁反应液离心至管底。

注：a 在进行第一轮 target enrichment 多重 PCR 时，Primer mix 终浓度与模版使用量条件需自行摸索。

b 酶用量根据 panel 大小，可在 0.5-2μL 之间进行调整，1μL 可适用于大部分 panel。

## 2. 多重 PCR 扩增程序

2.1 根据表 2 信息在 PCR 仪上设置 PCR 扩增程序：

表 2 多重 PCR 扩增反应程序

程序	循环数	温度	时间
热盖	/	105°C	/
1	1	95°C	3min
2		95°C	20s
3 <sup>a</sup>	15~35 <sup>c</sup>	60°C	30s~5min
4 <sup>b</sup>		72°C	30s~1min
5	1	72°C	5min
6	1	4°C	hold

注：a 根据 panel 引物 Tm 值大小调整退火温度，推荐 58~60°C；根据 panel 大小调整退火时间，panel 在 100 重以内推荐 1min，101~500 重推荐 2min，可根据实际情况摸索。

b 延伸时间根据扩增子大小调整。

c 循环数根据模板投入量需自行优化。

## 2.2 PCR 产物磁珠纯化

建议在 25μL 反应体系中补水至 50μL，然后添加 45μL（0.9×）纯化磁珠进行产物纯化；纯化后产物可直接进行第二轮文库扩增，或置于-20°C 冰箱短期保存。

## 注意事项

1. 请使用无 RNase 污染的耗材，并对实验区域定期进行清理。
2. PCR 所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 本产品仅用作科研用途。