

## 产品概述

2× Multiplex PCR Master Mix(DG)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(DG)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。本产品为冻干球剂型, 使用时只需要加入 RD Buffer102、模板和引物即可。

## 产品信息

产品名称	货号	规格
2× Multiplex PCR Master Mix(DG)	BR3M102-03OB	24T
	BR3M102-06OB	96T

## 产品组分

组分名称	组分编号	24T	96T
Multiplex PCR Master Mix (PF)	3M102-03OB-A	8T/pkg*3 条	
RD Buffer102	3M102-03OB-B	300μL	
Multiplex PCR Master Mix (PF)	3M102-06OB-A		8T/pkg*12 条
RD Buffer102	3M102-06OB-B		1200μL

## 保存条件

常温运输, 4℃保存。

## 使用方法

### 1. PCR 反应体系配制

1.1 将 Multiplex PCR Master Mix (PF) 瞬时离心, 每个冻干球加入 12.5 μL RD Buffer102 复溶, 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	
Multiplex PCR Master Mix (PF) 复溶液	12.5	
ddH <sub>2</sub> O	up to 25	
Total	25	

1.2 震荡混匀, 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。**

## 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	15~35 <sup>c</sup>	95°C	20s
3 <sup>a</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 T<sub>m</sub> 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。