

产品概述

AmpHiFi Mul-PCR Mix 是针对靶向捕获应用而开发的多重扩增预混试剂。使用多重热启动技术和引物-模板共稳定技术，搭配精心优化的缓冲体系，可实现快速、特异、均一的多重扩增，适用于病原靶向捕获、外显子靶向捕获等多重扩增应用。在默认条件下，本试剂能稳定、高效地扩增靶标区域，适用的 Panel 重数为 20-1000，扩增子 GC 含量范围可达 20%~85%，保真性约为 Taq 酶的 35 倍。

产品信息

产品名称	货号	规格
AmpHiFi Mul-PCR Mix	BR3M104-03	24T
高保真多重扩增预混液	BR3M104-06	96T

产品组分

组分名称	组分编号	BR3M104-03	BR3M104-06
2×AmpHiFi Mul-PCR Mix	3M104-A	600μL	2×1200μL

保存条件

-20°C (长期保存); 4°C可保存三个月。使用前请先轻柔混匀，并避免反复冻融。

注意事项

- 1.请使用高质量引物，推荐使用 HPLC 纯化，并精确定量浓度。
- 2.建议正式实验前，先分别测试每个引物对的扩增效果。
- 3.推荐每条引物的反应终浓度为 0.05μM，也可以根据实际扩增情况，增加低效率靶标对应的引物对浓度。
- 4.推荐扩增子长度不超过 1500bp。
- 5.若初次尝试扩增，或部分引物 Tm 值低于 55°C，推荐将退火温度设置为 55°C。
- 6.退火温度将影响扩增特异性，过高的退火温度将显著影响低 GC 靶标扩增效率。
- 7.若需进行产物纯化，请自备离心柱或纯化磁珠，并根据厂商建议使用。
- 8.若应用于扩增子文库构建，推荐搭配使用文库扩增试剂盒 AmpSeq Library Prep Kit (Biori #NM202) 或 AmpSeq Library Amplification Mix (Biori #NM210)。

使用方法

1. PCR 反应体系配制

1.1 将各组分试剂在冰面上解冻后混匀, 瞬时离心。按照表 1 配置反应液:

表 1. PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
模板 ^a	X	0.1ng-500ng
Primer Mix ^b	5	0.05μM each
2×AmpHiFi Mul-PCR Mix	25	1×
ddH ₂ O	up to 50	\
Total	50	\

a.推荐 50μL 体系中的模板使用量: 人和动植物基因组 25-100ng, 质粒 100pg。

b.推荐每条引物终浓度为 0.05μM, 也可根据实际需要, 在 0.02~0.2μM 之间调整。

1.2 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将管壁反应液收集至管底。

2. 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. PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
预变性	98°C	30s ^a	/
变性	98°C	10s	
退火	55°C ^b	30s	30~40
延伸	72°C	15-30s/Kb ^c	
完全延伸	72°C	5-10min	/
保温	4°C	∞	/

a.对于大多数模板, 98°C预变性 30s 足以满足扩增需要;若部分高 GC 靶标扩增效率低, 可增加至最多 3min。

b.若初次尝试扩增, 退火温度可从 55°C 开始; 若引物 T_m 值均高于 55°C, 或想提高扩增特异性, 可将退火温度设置为 60°C。

c.推荐使用 15-30s/Kb 的延伸速度, 过长的延伸时间会增加非特异扩增。