



2×Multiplex PCR StarMix (UNG)

2×多重 PCR 预混液 (UNG)

版本号: V230501

货号: A092
 保存: -20°C
 运输: 低温

货号	规格
A092-01	1 ml
A092-10	1 ml×10

【产品概述】

2×Multiplex PCR StarMix (UNG)是基于热启动抗干扰 *Taq* DNA 聚合酶开发的即用型多重 PCR 预混试剂。本产品具有极高的扩增效率和检测灵敏度;多重 PCR 扩增偏好性低,在获得极高产量的同时保持多重扩增均一性;含有 dUTP/UNG 防污染系统,可有效防止 PCR 气溶胶污染。本产品适用于以 DNA 为模板的多重 PCR 扩增、病原体的检测和分型、分子杂交检测等。本品为无色 2×预混液,不含 DNA 上样缓冲液和染料。在多重 PCR 反应完成后,需添加 DNA 上样缓冲液后进行电泳。

【产品特点】

1. 扩增效率高:在反应体系中多重模板引物均可进行高效扩增。
2. 特异性强:有效减少由引物错配引起的非特异性扩增。
3. 抗干扰能力强:高度耐受多种抑制剂和杂质类型,可兼容全血等直扩。
4. 防污染系统:添加了 dUTP/UNG 防污染系统,可有效防止气溶胶污染。

【产品组分】

组分货号	组分名称	A092-01	A092-10
ZA092-101	2×Multiplex PCR StarMix (UNG)	1 ml	1 ml×10
ZA129-101	Sterile Water	1 ml	1 ml×10

【保存条件】

-20°C保存,保质期 24 个月,避免反复冻融。

【使用方法】

用户需自备的试剂:DNA 模板、引物。

注:每管样品应仔细混匀并离心后开启,所有多重 PCR 操作过程应在冰上进行。

操作示例:以 25 μl 多重 PCR 反应体系为例:

1. 按照下表配制 PCR 反应体系:

组分	体积
DNA 模板 ^a	X μl
2×Multiplex PCR StarMix (UNG)	12.5 μl
5×Primer Mix ^b	5 μl
Sterile Water	补足至 25 μl

^a模板量:50-100 ng 基因组 DNA, 500 pg 质粒,或 1-2.5 μl 反转录反应后的 cDNA。

^b制备 5×Primer Mix:预先混合所有扩增引物,使每条引物终浓度为 1 μM。推荐每条引物反应终浓度为 0.2 μM,可在 0.05-0.4 μM 之间调整。



2. PCR 反应循环设置:

a) 标准反应程序

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	2 min	
预变性	95°C	3 min ^c	
变性	95°C	30 s	
退火	60°C	90 s ^d	30-35
延伸	72°C	60 s/kb	
终延伸	72°C	10 min	

^c 预变性时间可根据不同模板类型进行调整。

^d 扩增低拷贝模板、长片段或者扩增片段较多时，可适当延长退火时间至 3 min 以提高扩增效率。

b) 快速反应程序

流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	50°C	2 min	
预变性	95°C	3 min	
变性	95°C	15 s	
退火	60°C	30 s	25-35
延伸	72°C	30 s/kb	
终延伸	72°C	5 min	

注：初次扩增建议采用标准反应程序，快速反应程序可能会损失部分扩增产量需验证后使用。

3. 结果检测：需添加上样缓冲液后取 2-5 μl 反应液电泳观察结果。

【注意事项】

- 引物设计对于多重 PCR 扩增的成功与否至关重要。设计好的引物应该逐一通过 PCR 验证, 然后才能选择效果较好的引物。对于多重 PCR 扩增, 推荐引物设计原则如下:
 - 多重引物设计应保持几对引物解链温度相似, 避免互补序列。
 - 引物长度一般为 24-35 bp, GC 含量 50%-60%, 解链温度 65°C 以上。
 - 引物设计时请尽量避免 T/C 或者 A/G 的连续结构, 避免 3' 端出现超过 3 个连续的 G 或 C。
- 新合成的引物使用前, 应先对其真实浓度进行校准。扩增效率低的情况下, 可适当提高引物浓度; 发生非特异性扩增时, 可适当降低引物浓度。

【常见问题与解决方法】

常见问题	解决方案
出现非特异性扩增	a) 降低酶量
	b) 重新设计引物
	c) 减少引物使用量
	d) 减少循环数
电泳时出现条带模糊现象	e) 提高退火温度
	a) 减少起始模板量
	b) 延长终延伸步骤时间至 15-30 min
	c) 减少循环数(每次减少 3 个循环)
扩增产物少或没有扩增	d) 降低电泳电压, 更换新的电泳缓冲液
	a) 使用高质量的模板、使用高质量的引物
	b) 增加 PCR 循环数
	c) 延长延伸时间
	d) 检查单对引物的扩增性能和特异性
	e) 检查单对引物的扩增性能和特异性
f) 降低退火温度(间隔 1-3°C), 必要时进行退火温度梯度测试。确认退火时间为 90 s, 必要时可延长退火时间至 3 min。	

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。