

## 2×RAPA3G Multiplex PCR Mix 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

Multiplex PCR 又称多重 PCR，是指在同一 PCR 反应体系里加上两对以上引物，同时扩增出多个核酸片段的 PCR 反应，已被广泛应用于科学研究和疾病诊断等多个领域，特别适用于微量样本的多位点检测。

本产品使用具有极强扩增性能的热启动 RAPA3G DNA 聚合酶和优化的多重 PCR 反应缓冲液，使其可有效扩增 20 重以上的 PCR，具有极高的灵敏度，最大程度上减少了反应体系优化步骤。

### 特性

- RAPA3G DNA 聚合酶，扩增性能强，抗杂质能力极高
- 完全封闭的热启动特性，50℃ 以下 100% 无活性
- 优化的反应缓冲体系，避免非特异性扩增
- 高灵敏度，有效扩增 0.1ng 的人基因组 DNA (20 重)

**储存:** 长期储存置于 -20° C 以下，可保存 2 年；短期使用置于 4° C (3 个月) 保存。

### 使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

2×RAPA3G Multiplex PCR Mix	12.5 μl
10×Primer Mix	2.5 μl
*模板 DNA	0.1~100 ng
ddH <sub>2</sub> O	up to 25 μl

\*模板 DNA: 人的基因组 100 ng, 质粒 100 pg, cDNA 1-5 μl.

## 2. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
预变性	95 °C	5min
	95 °C	20s
30-35Cycles	57~60 °C	60s
	72 °C	2kb/min
末延伸	72 °C	10min

**请注意:** 该制品为热启动制品预变性步骤 5min 不可缩短, 否则 DNA 聚合酶无法恢复活性。

3. 电泳: 1kb 以内的扩增产物建议使用 3%~4% 琼脂糖凝胶, 电压使用 80V, 可以有效的分离各扩增片段。

### 4. 注意事项:

(1) 当模板 GC 含量>70%时, 请添加 5×Q-Solution。

(2) 推荐引物设计原则: 引物长度保持在 22 - 30 bp, 扩增产物长度在 2kb 以下, GC 含量 50% - 60%, 尽量减少各引物之间 TM 的差值。

(3) 检测单引物特异性: 多重 PCR 反应前, 应对设计的引物逐一扩增, 以确定是否有非特异性扩增和扩增效率。

(4) 引物推荐使用浓度: 推荐扩增片段<300bp 每条引物的反应终浓度为 0.2-0.3 μM, 扩增片段>300bp 每条引物的反应终浓度为 0.05-0.15 μM, 如某些目标片段产量偏低或偏高, 可适度调整其对应引物使用量以优化反应结果。