



TFP Lyo Multiplex PCR Mix(UNG)

目录号：CW3379S (1mL)

CW3379M (5mL)

保存条件：-30~-15℃，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW3379S 1mL	CW3379M 5mL
2×TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG)	1mL	5mL
ddH ₂ O	1mL	5mL

产品简介

TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG) 是一款适用于各种类型多重PCR的可冻干预混体系，浓度为2×，包含DNA聚合酶、UNG酶、PCR Buffer、dNTPs、Mg²⁺以及增强剂等成分。

TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG) 包含的DNA聚合酶是一种经基因工程改造的重组酶，具有5'→3'DNA聚合酶活性，无5'→3'外切酶活性；DNA聚合酶经过新型抗体修饰，为抗体修饰热启动酶，具有高效扩增效率，同时具有激活时间短、扩增能力强、灵敏度高、优良特点。本产品中引入了dUTP/UNG防污染系统，可有效去除PCR产物的残留污染，大大降低了由于扩增产物污染而导致的假阳性。

TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG) 适用于防污染多重PCR反应，如微卫星分析、基因型、SNP检测等。本产品可搭配冻干保护剂，用于冻干试剂的制备。

注意事项

1. 使用前请在本品完全融化后上下颠倒轻轻混匀，并经短暂离心后使用。
2. 避免反复冻融本品，反复冻融可能使产品性能下降，建议分装保存。

使用方法

以下举例为常规PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据具体用途、模板、引物结构、目的片段大小和扩增效果不同进行相应的改进和优化。

1. 将2×TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG)、5×Multiplex冻干保护剂、Primer Mix、模板置于冰上融化备用。
2. PCR反应体系

试剂	25μL体系	50μL体系	终浓度
2×TFP Lyo Multiplex PCR Mix (UNG)	12.5μL	25μL	1×
Primer Mix	XμL	XμL	
5×Multiplex 冻干保护剂	5μL	10μL	1×
Template DNA	XμL	XμL	
ddH ₂ O	Up to 25μL	Up to 50μL	

备注：5×Multiplex冻干保护剂如有需要，可联系康为技术人员提供。

2. 环境要求：溶液分装及配置尽量在万级层流保护下进行，环境空间尘埃掉落进溶液中成为冻干过程的晶核，影响溶液的结晶的过冷度，导致产品质量不一致性。
3. 出仓环境温湿度应作控制，建议出仓温度在15 ~ 25℃，湿度建议≤30%。

注意:

引物设计时, 应尽量减小各引物的 T_m 间的差值, 差值尽量控制在 5°C 以内。扩增效率不高的情况下, 可提高引物浓度; 发生非特异性扩增时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。为达到最优扩增效果, 建议引物混合物使用前涡旋震荡10s短暂离心后使用。

3. 混匀, 短暂离心, 将溶液收集到管底。

4. PCR反应程序

步骤	温度	时间	循环
UNG消化	50°C	2-10min	1
预变性	95°C	30 s-5min ¹⁾	1
变性	95°C	10s	} 30-40
退火	$55-65^\circ\text{C}^{2)}$	30s	
延伸	72°C	1kb/min	
终延伸	72°C	5min	1

注意:

1) 本产品 95°C 预变性30 s即可使酶激活; 复杂模板可将预变性时间延长至5 min。

2) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C , 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 由此优化反应条件。

冻干程序

阶段	步骤	温度	斜率时间	控温时间	真空度Pa
预冷	1	0°C	10min	30min	--
预冻	2	-45°C	90min	300min	--
升华干燥	3	-30°C	90min	180min	14Pa
	4	-10°C	120min	180min	14Pa
	5	0°C	60min	160min	14Pa
解析干燥	6	30°C	150min	240min	14Pa

1. 冻干设备要求:

冷阱盘管表面温度 $\leq -50^\circ\text{C}$

板层温度 $\leq -45^\circ\text{C}$, 温度均一性 $\pm 1^\circ\text{C}$

可做压升测试 (冻干生产前, 做泄漏率测试)