

## Hieff<sup>®</sup> Multiplex PCR Kit (Mg<sup>2+</sup> free)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Kit (Mg <sup>2+</sup> free)	13278ES60	100 T
Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Kit (Mg <sup>2+</sup> free)	13278ES76	500 T

### 产品描述

本产品适用于多重 PCR 实验。Hieff<sup>®</sup> Multiplex PCR Kit (Mg<sup>2+</sup> free) 由多重 PCR 酶制剂与不含 Mg<sup>2+</sup> 的 2× 扩增缓冲液组成，在进行扩增反应时，可在反应体系中根据需求添加适量 Mg<sup>2+</sup>。该产品的扩增具有高均一性、高特异性和高灵敏度的特点，可以对 20 对及以上引物体系进行特异、均一的扩增反应。

### 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		13278ES60 (100T)	13278ES76 (500T)
13278-A	Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Enzyme	100 μL	500 μL
13278-B	2×Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	2×1.25 mL	10×1.25 mL
13278-C	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	1×600 μL	3×1 mL

**【注】**: 13278-A 组分避免反复冻融。

### 运输与保存方式

冰袋运输。-20℃ 储存，有效期 1 年。

### 反应体系

组分	体积 (μL)	终浓度
2×Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	25	1×
Hieff <sup>®</sup> Multiplex PCR Enzyme	1	-
Primer mix	x	0.1 μM-0.5 μM
模板 DNA	DNA 总量: 1 ng-200 ng	-
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	y	1-5 mM
无菌超纯水	up to 50	-

**【注】**: 1) DNA 量和引物浓度均为推荐起始投入量和浓度，可根据具体实验情况进行调整，选择最适投入量和浓度；

2) 引物浓度: 建议每条引物的浓度在 0.1 μM-0.5 μM 参考范围内进行调整；

3) Hieff<sup>®</sup> Multiplex PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) 中已经包含扩增所需要的 dNTP、盐离子等，但不包含 Mg<sup>2+</sup>，需在反应体系中根据实验需求添加适量 Mg<sup>2+</sup>。

## 扩增程序

循环步骤	温度 (°C)	时间	循环数
预变性	94	1 min	1
变性	94	30 sec	} 15-45
退火	50-60	60 sec	
延伸	72	60 sec/kb	
终延伸	72	10 min	1

**【注】**: 1) 在 PCR 仪上设置上表中的反应程序进行多重 PCR 反应 (设置热盖温度至 105°C 左右)

2) 使用本产品获得的扩增产物需添加 Loading buffer 后用于电泳检测。

3) 延伸时间以最长扩增片段为准, 可适当延长延伸时间, 但要避免过长时间带来的非特异性扩增。

## 实验案例分享

以人基因组 DNA 为模板, 使用 10 对引物进行多重 PCR 反应, 分别扩增 97 bp、139 bp、181 bp、212 bp、268 bp、331 bp、415 bp、507 bp、741 bp 和 1172 bp 的目的片段。

扩增体系配制

组分	体积	终浓度
Hieff® Multiplex PCR Buffer (Mg <sup>2+</sup> free)	25 µL	1×
Hieff® Multiplex PCR Enzyme	1 µL	-
Primer mix	10 µL	0.1 µM-0.5 µM
模板 DNA (100 ng/µL)	1 µL	2 ng/µL
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	5 µL	2.5 mM
无菌超纯水	to 50 µL	-

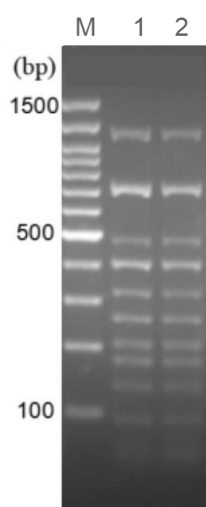
扩增程序设置

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	94°C	1 min	1
变性	94°C	30 sec	} 35
退火	60°C	60 sec	
延伸	72°C	60 sec	
终延伸	72°C	10 min	1

## 电泳检测

2% 琼脂糖凝胶; 130 V; 电泳时间 1 h。

## 实验结果



M: 100bp DNA marker

Lane 1-2: 10 重 PCR 产物