

## 5× Hieff Canace<sup>®</sup> PCR Master Mix (for Multiplex PCR)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
5× Hieff Canace <sup>®</sup> PCR Master Mix (for Multiplex PCR)	10137ES03	1 mL
	10137ES08	5×1 mL
	10137ES25	25×1 mL
	10137ES50	50 mL
	10137ES60	250 mL
	10137ES76	500 mL

### 产品描述

5× Hieff Canace<sup>®</sup> PCR Master Mix (for Multiplex PCR)是基于新一代高保真 DNA 聚合酶 Canace 开发的, 针对于高通量测序领域中多重 PCR 文库构建应用专门优化的。Canace 酶基于 *Pyrococcus furiosus* DNA Polymerase, 经基因工程改造而成。其蛋白结构包含 5'→3' 聚合酶结构域和经过改造的 3'→5' 外切酶结构域。这种组合大幅度提升了酶的耐热性, 保真性。耐热温度达到 98°C, 保真性是 Taq DNA 聚合酶的 52 倍, 普通 Pfu DNA 聚合酶的 6 倍。酶溶液中添加了独特的延伸因子, 扩增速度达到 15 sec/kb。本产品为 5×mix PCR 混合液, 可添加的模板、引物体积范围大, 使您的实验更加灵活 (本公司另有 2×mix 可供选择, Cat.10138)。

### 产品应用

多重 PCR 文库构建。

### 运输与保存方法

冰袋运输。-20°C 保存。有效期 2 年。

### 注意事项

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
2. 值得注意的是, 多重 PCR 建库实验本身具有一定的难度, 通常需要进行优化, 如您在使用本产品时遇到困难, 可联系我们的技术支持, 我们有多重优化方案, 可帮助您更好的构建实验体系。
3. 本产品仅作科研用途!

## PCR 反应体系（推荐冰上配制）

组分	体积 $\mu\text{L}$
ddH <sub>2</sub> O	to 50
DNA 模板	X
Primer mix (X $\mu\text{M}$ )	X
5×Hieff Canace <sup>®</sup> PCR Master Mix (for Multiplex PCR)	10

**【注】**：1) **试剂使用**：使用前要充分解冻混匀。

2) **引物与模板**：第一轮多重 PCR 进行 target enrichment，其中的引物和模板条件需要自行摸索。

**第二轮多重 PCR 引物的浓度建议使用：10  $\mu\text{M}$  引物 加 2  $\mu\text{L}$  左右。**

### 第一轮 PCR 扩增程序：

循环步骤	温度 ( $^{\circ}\text{C}$ )	时间	循环数
预变性	98 $^{\circ}\text{C}$	3 min	1
变性	98 $^{\circ}\text{C}$	20 sec	} 15-45
退火/延伸	60 $^{\circ}\text{C}$	4-10 min	
终延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	5 min	1

**【注】**：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 $^{\circ}\text{C}$ 左右）。

退火/延伸时间：100 重 PCR 推荐 4 min；1000 重推荐 8-10 min 需要自己根据引物情况摸索。

### PCR 产物磁珠纯化

建议在 50  $\mu\text{L}$  反应体系中加入 45  $\mu\text{L}$  磁珠（Cat:12601）进行产物纯化。

### 第二轮 PCR 扩增程序：

循环步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 $^{\circ}\text{C}$	30 sec	1
变性	98 $^{\circ}\text{C}$	15 sec	} 25-35（可自行优化）
退火	60 $^{\circ}\text{C}$	30 sec	
延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	1 min	} 1
终延伸	72 $^{\circ}\text{C}$	5 min	

**【注】**：**退火温度和时间**：推荐使用 60 $^{\circ}\text{C}$ ，也可根据需要，设立温度梯度去摸索引物退火的最适温度。推荐退火时间设置为 30 sec，可以在 10-30 sec 内调节。退火时间太长可能导致扩增产物在胶上呈弥散状。

### PCR 产物磁珠纯化

建议在 50  $\mu\text{L}$  反应体系中加入 45  $\mu\text{L}$  磁珠（Cat:12601）进行产物纯化。