

Superbrilliant[®] 第三代 2×ZAPA 多重 PCR 预混液 (with dye)**Superbrilliant[®] 2×ZAPA3G Multiplex PCR Mix (with dye)****Cat. No.: ZS-M12011**

组分:

货号	名称	ZS-M12011S (100T×50μl)	ZS-M12011M (500T×50μl)	ZS-M12011L (1000T×50μl)
103055	2×ZAPA3G Multiplex PCR Mix	2.5 ml	12.5 ml	25 ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

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, 可保存 3 个月。

简介: ZAPA3G DNA 聚合酶是一种新型的酶体系, 经基因工程改造和电子重构架, 增加了 DNA 的亲合力, 与其他高保真酶相比具有行业领先性。该酶具有 6kb/min 以上的扩增速度, 扩增基因组或 cDNA 可达 10kb, 扩增质粒或噬菌体 DNA 可达 20kb。ZAPA3G DNA 聚合酶具有高度的杂质耐受性、长片段扩增能力、高扩增成功率、高产量, 这些特点使得 ZAPA3G 系列产品可用于粗制样品的直接扩增, 无需核酸纯化步骤。该酶经化学修饰, 采用专有的热启动技术确保 50℃ 以下 100% 无活性, 因此可在室温建立反应体系。热启动配方中, 酶是结合在一个特定载体上, 使其在第一部变性之前一直保持灭活状态, 只有 95 度条件下加热 5min 后才能完全恢复酶的活力, 从而启动 PCR 扩增, 这样就消除了反应设定和启动过程中非特异性启动导致的产物增加, 提高 PCR 扩增的特异性、PCR 产物的产量、准确性和精确性。该试剂盒独特的反应缓冲液, 可在宽范围中得到良好的扩增结果、检测灵敏度更高、信号更强。

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 ZAPA 三代 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。

特点和用途:

- (1) 高杂质耐受性: 该酶可耐受植物中的多糖多酚; 全血、血清、血浆中的肝素、高浓度的血红蛋白、甘油三脂、乙醇、胍盐、SDS 等强 PCR 抑制剂。
- (2) 完全封闭的热启动特性, 50°C 以下 100% 无活性。
- (3) 优化的反应缓冲体系, 避免非特异性扩增。
- (4) 高灵敏度, 有效扩增 0.1ng 的人基因组 DNA (20 重)。

使用方法

1. 按下表配制反应体系并混合均匀:

2×ZAPA3G Multiplex PCR Mix	25 μl
10×Primer Mix	5 μl
*模板 DNA	0.1~200 ng
ddH ₂ O	up to 50 μl

*模板 DNA: 人的基因组 200 ng, 质粒 200 pg, cDNA 1-10μl。

2. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
预变性	95°C	5 min
30-35 Cycles	95°C	20 s
	57~60°C	60 s
	72°C	6 kb/min
未延伸	72°C	10 min

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 Superbrilliant[®] 5×高 GC 含量模板、长片段辅助 buffer (Cat. No.: ZS-M-1058)。

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

(5) 反应前需将引物制成 10×Primer Mix:

引物储存液	用量	10x 浓度
引物 1 F (100μM)	1 μl	1 μM
引物 1 R (100μM)	1 μl	1 μM
引物 2 F (100μM)	0.5 μl	0.5 μM
引物 2 R (100μM)	0.5 μl	0.5 μM
.....		
引物 n F (100μM)	3 μl	3 μM

引物 n R (100 μ M)	3 μ l	3 μ M
ddH ₂ O Upto	100 μ l	

常见问题及解答:

1. 扩增产物少或没有扩增。

- (1) 降低退火温度 (每个梯度降低 1 $^{\circ}$ C)。
- (2) 增加模板量。
- (3) 增加 PCR 循环数。
- (4) 增加退火时间为 90 sec, 必要时可延长退火时间至 3 min。
- (5) 增加引物使用量。

2. 存在非特异性扩增。

- (1) 减少循环数, 提高退火温度 (每个梯度降低 1 $^{\circ}$ C)。
- (2) 减少引物使用量。
- (3) 重新设计引物。

3. 电泳时条带模糊。

- (1) 减少循环数(每次减少 3 个循环)。
- (2) 减少起始模板量。
- (3) 延长彻底延伸步骤时间至 15 - 30 min。
- (4) 减少退火时间。