

TruePol 2X PCR Mix for NGS

版本号: M17A09V1.0

目录号: RK20726

规格: 24 RXN/96 RXN (50 µL/RXN)

产品组成:

组分货号	组分名称	24 RXN	96 RXN
RM20727	2x PCR Mix	600 µL	1.2 mL X 2

产品概述

2X PCR Mix 是一种来自于 B 家族聚合酶的预混液, 此聚合酶来源于特有的聚合酶突变库, 具有较强的延伸能力, 提高了产量及特异性, 无明显的 GC 偏好性。具有 5'-3'持续合成活性和 3'-5'核酸外切酶活性, 其扩增产物是平末端的。

2X PCR Mix 是一种操作简易的 2X Mix, 其中包含 DNA 聚合酶、缓冲 Buffer、Mg²⁺和 dNTPs 等, 扩增体系中仅需额外加入 DNA 模板、引物和水即可进行扩增。

所有批次的 2X PCR Mix 均经过了严格质量控制, 保证每个批次的试剂性能稳定。

此产品适用于 ABclonal 的 Rapid Plus DNA Lib Prep Kit 系列, 如 RK20208 Rapid Plus DNA Lib Prep Kit for illumina, RK20255 Rapid Plus DNA Lib Prep Kit for illumina V2, RK20256 Rapid Plus DNA Lib Prep Kit for MGI V2 等建库试剂盒的文库产物再扩增。

保存温度: -20°C

操作说明

操作注意事项:

- 完全融化后, 颠倒混匀后使用。不宜反复冻融, 以防产量下降。
- 推荐将所有的反应组分在冰上配制, 然后快速将反应体系转移到已经预热到 98°C 的 PCR 仪中, 因为聚合酶的校正活性在室温下将会导致引物的降解;
- 建库步骤或体系参看 ABclonal 建库说明书;
- 该聚合酶专为 NGS 建库扩增体系开发, 如果需要进行基因克隆等方面的扩增, 请选取其他的分子扩增酶;

推荐 PCR 反应:

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98°C	45 s	1
变性	98°C	15 s	根据投入量推荐的循环数
退火	60°C	30 s	
延伸	72°C	30 s	
终延伸	72°C	1 min	1
Hold	4~10°C	∞	

以 50 µL 反应体系为例:

组份	体积 (50 µL)
2X PCR Mix	25 µL
DNA 模板*	Variable
上游引物 (20 µM)**	2.5 µL
下游引物 (20 µM)**	2.5 µL
Nuclease-free Water	to 50 µL

*此处的 DNA 模板指的是文库构建过程中接头连接后的磁珠纯化产物。

**此处的引物为 NGS 建库过程中使用的文库扩增引物。

推荐反应程序:

根据不同样本类型, 不同投入量及不同测序平台选择不同的循环数, 例如, 使用 Illumina 平台/MGI 平台的短接头, 不同起始量模板, 扩增后得到 1 µg 产物推荐循环数如下表:

DNA 起始模板量 (fragmented DNA)	PCR 循环数推荐 (1 µg)
1 ng	13-15
10 ng	9-11
25 ng	7-9
50 ng	6-7
100 ng	5-6
250 ng	4-5
500 ng	3-4
1000 ng	2-3

注:

1.对于长接头, 可适当采用最高循环数进行扩增;

2.对于 MGI 平台, 可适当采用中等循环数或者最高循环数进行扩增;

3.对于 FFPE 样本, 尤其质量较差的样本, 需要在此基础上增加 1-2 个循环数。