

## Nu-MIX0101

**试剂盒应用**

本产品包含 Taq DNA Polymerase、dNTPs 以及 PCR 增强剂，相比于普通 PCR，具有更高保真度、更强的扩增性能和产量。可用于 5kb 以内基因组为模板的扩增。预先配制好的体系进行 PCR 反应时只需加入引物和模板进行扩增，提高检测通量。

该产品中添加的保护剂可在反复冻融后仍保持活性。蓝色染料可在 PCR 后直接进行琼脂糖凝胶电泳，使用方便。相较于普通 PCR，该聚合酶具有更高保真度、更高的扩增产量。扩增后 PCR 产物 3' 末端带有 A，可进行 TA 克隆。

本产品仅供研究使用，不可用于临床、食品、化妆品等领域。

**试剂盒组成**

组分	Nu-MIX0101	Nu-MIX0102
NuSmart® 2×Master Mix	5 mL	10×5 mL

**保存条件**

-20°C 保存。长期使用可放 4°C 保存，避免反复冻融。

**使用方法****一、推荐 PCR 反应体系**

	20 μL 体系	50 μL 体系
NuSmart® 2×Master Mix	10 μL	25 μL
引物 1 (10 μM)*	1 μL	2 μL
引物 2 (10 μM)*	1 μL	2 μL
DNA 模板	x μL	x μL
ddH <sub>2</sub> O	补足至 20 μL	补足至 50 μL

\*：引物浓度可以在 0.1-0.5 μM 范围内进行调节。

**二、按照以下方法设定 PCR 反应**

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 °C	5 min	1
变性	95 °C	15-30 s	} 30-40
退火	50~72 °C	30 s	
延伸	72 °C	1 kb/min	
彻底延伸	72 °C	5 min	1
	4 °C	Hold	1

## 常见问题解析

问题	可能原因	推荐解决方案
阳性对照和样本都未出现扩增条带	(1) PCR 条件并非最优 (2) 2× Master Mix 保存不当 (3) 引物并非最优	(1) 推荐使用梯度 PCR 摸索最佳 PCR 反应条件。 (2) NuSmart® 2× Master Mix 应在-20℃保存, 使用过程中置于冰浴中。避免反复冻融。
阳性对照有条带, 但是样本无条带或者条带比较弱	(1) PCR 条件并非最优 (2) DNA 模板量太大 (3) 基因组断裂或者降解 (4) PCR 循环数不合适 (5) 扩增片段太大 (6) 引物浓度不合适	(1) 推荐使用梯度 PCR 摸索最佳 PCR 反应条件。 (2) 不同提取方法获得模板产量和纯度有很大差别, 可以做 3 个浓度梯度确定最佳是用量。 (3) 推荐扩增 5kb 以内基因。
非特异性条带多	(1) 退火温度偏低 (2) PCR 循环数过多 (3) 引物浓度过高 (4) 引物并非最优	(1) 推荐使用梯度 PCR 对退火温度进行摸索。 (2) 推荐使用 35-40 个循环进行扩增。 (3) 降低引物浓度, 使引物终浓度在 0.1-0.5μM。 (4) 重新设计引物。
阴性对照出现条带	(1) 引物污染 (2) 无菌水污染 (3) 操作工具污染 (4) 样本间交叉污染 (5) PCR 产物间污染	(1) 使用耗材需要经过无酶处理。 (2) 使用移液器时防止液体飞溅。 (3) 减少开盖次数, 防止气溶胶污染。 (4) 使用的吸头、离心管等耗材应丢弃在含有 75%乙醇或核酸消除剂的容器中, 防止形成环境污染。 (5) 定期对样本处理区域进行消毒。