

## 产品概述

VAHTS AmpSeq Multi-PCR Module V2是在超多重PCR技术基础上，研发设计的一款扩增试剂，适用于1 - 100 ng起始的gDNA、FFPE DNA、cfDNA等模板的多重扩增。优化的多重扩增试剂包含扩增所需的酶、dNTP Mix及反应Buffer，减少了实验过程中的移液操作，使结果更加稳定，可帮助研究者和检测人员简便、快速、高质量地完成超多重PCR扩增，适用于下游靶向扩增子文库构建等实验。本扩增试剂经过了严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了试剂的稳定性和重复性。

## 产品组分

组 分	NA205-01 (24 rxns)	NA205-02 (96 rxns)
5 × VAHTS Multi-PCR Mix	96 μl	384 μl

## 保存条件

-30 ~ -15°C保存，≤0°C运输

## 适用范围

本产品适用于DNA模板起始量为1 - 100 ng的多重扩增反应，兼容不同样品类型来源的DNA模板：

- ◇细胞或组织DNA；
- ◇福尔马林固定石蜡包埋 (FFPE) 样本DNA；
- ◇细胞游离DNA (cell-free DNA, cfDNA) 等。

本产品仅用于分子生物学及其他科学研究目的，不能应用于临床诊断和治疗。

## 注意事项

1. 本产品检测灵敏度高，为避免污染，试剂准备和加入模板步骤应在不同的洁净区域完成。
2. 本产品中所有组分应储存于无核酸和核酸酶污染的环境中，以免导致实验失败。
3. 如果您是首次操作该方案，推荐同时设置阳性与阴性对照。
4. 5 × VAHTS Multi-PCR Mix较为粘稠，使用前请务必上下颠倒混匀、短暂离心，并缓慢吸取这些组分。

## 实验流程

### 1. 推荐反应体系:

组 分	体 积
Nuclease-free ddH <sub>2</sub> O	To 20 µl
DNA模板	x µl
Primer Mix*	x µl
5 × VAHTS Multi-PCR Mix	4 µl

\* 若订购商业化的引物Panel, 需根据所订购引物浓度加量。如在20 µl体系中, 当引物Panel为2 ×浓度, 需加入10 µl; 当引物Panel为5 ×浓度, 需加入4 µl; 当引物Panel为10 ×浓度, 需加入2 µl; 若自行设计多重扩增引物时, 引物之间的Tm值尽可能保持一致, 防止退火温度不一致导致的扩增均一性差; 建议体系中每条引物终浓度为0.02 - 0.2 µM。

▲ 5 × VAHTS Multi-PCR Mix比较粘稠, 需混合均匀、短暂离心后, 缓慢吸取溶液。

### 2. 推荐反应程序:

温度	时间	循环数	
99°C	2 min	}	
99°C	15 sec		x
60°C	4 min		
72°C	10 min		
4°C	Hold		

扩增循环数x可参考下表:

单管引物重数	正常来源DNA	FFPE/cfDNA
10 - 50	22 - 24	25 - 27
50 - 200	20 - 22	23 - 25
200 - 1,000	17 - 20	20 - 23
1,000以上	15 - 17	18 - 20

▲ 当样品DNA质量较差时, 可以考虑适当增加循环数。

▲ 若一个Panel中包含多管引物且引物重数不一致时, 以重数高者为准; 当单管引物重数高于1,000重或3,000重时, 将退火延伸时间分别延长至8 min和16 min。

## 常见问题与解决方案

### ◇ 产量偏低

- 重新定量投入模板量, 确认模板起始量是否正确。若低于下限1 ng, 需提高投入模板量。
- 若模板质量较差, 可依据说明书适当提高循环数或使用高质量模板。
- 请确认每一步体系以及程序是否按照说明书进行, 并注意每一步骤中各项操作细节。

### ◇ 产量偏高

- 模板投入量是否高于100 ng, 若高于, 可减少模板投入量。
- 多重扩增循环数可依据说明书适当降低。

### ◇ 产物均一度偏低

- 模板受损严重或PCR环节扩增不充分。请使用高质量模板或将PCR环节中退火延伸时间延长。
- AT含量高的扩增子较少: 加倍退火延伸时间或将退火温度由60°C降低至58°C。
- GC含量高的扩增子较少: 在PCR环节的前两个循环中, 将退火温度由60°C提升至62°C。

### ◇ 建议分区操作

PCR产物极易产生气溶胶污染, 进而导致实验结果不准确、可信度不高等问题。建议将PCR反应体系配制区和PCR反应区进行物理隔离, 使用专用的移液器等设备, 并定时对各实验区域进行清洁(使用0.5%次氯酸钠或10%漂白剂进行擦拭清理), 以保证实验结果的可信度。

\*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。