Monad
莫纳生物

For Research Use Only
Version 1.0

MonAmp™ 2× MonHI-FI Max Mix

REF: MP35101

储运条件

长期保存请于 -20℃保存，避免反复冻融。

产品组成

组分 / 规格	MP35101S	MP35101M
MonAmp™ 2× MonHI-FI Max Mix	1 ml	5×1 ml
ddH_2O	1 ml	5×1 ml

产品简介

MonAmp™ 2× MonHI-FI Max Mix 是 MonAmp™ 2× MonHI-FI Mix 的升级版本，Max Mix 中添加了独特的延伸因子、特异性促进因子以及平台期解抑制因子，使其在长片段扩增能力、扩增特异性以及扩增产量方面得到了大幅度提升。使用 λDNA 等简单模板，MonHI-FI Max Mix 可以有效扩增长达 40 kb 的片段；使用基因组 DNA 等复杂模板，可以扩增长达 20 kb 的片段；使用 cDNA 模板，可以有效扩增长达 10 kb 的片段。其保真度是 Taq DNA Polymerase 的 72 倍。此外，MonHI-FI Max Mix 对 PCR 抑制剂具有良好的抵抗能力，可用于细菌、真菌、植物组织、动物组织或全血样品的直接 PCR。

质量控制

宿主残留 DNA 检测

取本品经 E.coli 16s rDNA 特异性的 TaqMan qPCR 检测，E.coli 基因组残留低于 10 拷贝。

核酸内切酶残留检测

将酶液与超螺旋质粒 DNA 在 37℃温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

核酸外切酶残留检测

将酶液与双链 DNA 底物在 37℃温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

功能检测

分别以 λDNA、质粒 DNA 和人基因组 DNA 为模板，扩增不同长度的 3 个片段，35 个循环后将 PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳，经核酸染料染色，可见目的条带。

使用方法

1. 常规 PCR 反应体系

试剂	使用量	终浓度
MonAmp™ 2× MonHI-FI Max Mix[a]	25 μl	1×
正向引物 (10 μM)[b]	1~2 μl	0.2~0.4 μM
反向引物 (10 μM)[b]	1~2 μl	0.2~0.4 μM
DNA 模板 [c]	X μl	
ddH_2O	To 50 μl	

a. 2× MonHI-FI Max Mix 中已含有 Mg^{2+}，终浓度为 2 mM；

b. 引物推荐终浓度为 0.2~0.4 μM，效果不佳时可以在 0.1~1 μM 浓度范围内进行调整；

c. 不同模板最佳反应浓度有所不同，以 50 μl 体系为例：模板为基因组 DNA 时，一般推荐的使用量为 50~400 ng；模板为质粒或病毒 DNA，推荐 10 pg~30 ng；模板为 cDNA 时，推荐的使用量为 1~5 μl（≥200 ng RNA 相当量）。

2. 常规 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	
预变性	95℃	3 min	
变性	95℃	15 sec	25~35 Cycles
退火 [a]	55~72℃	15 sec	
延伸 [b]	72℃	30~60 sec/kb	
终延伸	72℃	5 min	

a. 请根据引物 Tm 值设置退火温度，当引物 Tm 值 ≥72℃，可删除退火步骤，直接进行后续的延伸步骤（两步法 PCR）；如果不确定 Tm 值，可以建立温度梯度寻找引物与模板结合的最适温度；

b. 延伸速率设置为 30 sec/kb 可以满足多数实验，如果扩增效果不佳，可以适当延长延伸时间提高扩增产物量。

3. 长片段扩增指南

在扩增长片段时，若上述常规 PCR 反应程序不能有效扩增，可尝试下表所示 Touch Down 两步法 PCR：

步骤	温度	时间	
预变性	95℃	3 min	
变性	95℃	15 sec	5 Cycles
延伸	74℃	60 sec/kb	
变性	95℃	15 sec	5 Cycles
延伸	72℃	60 sec/kb	
变性	95℃	15 sec	5 Cycles
延伸	70℃	60 sec/kb	
变性	95℃	15 sec	25 Cycles
延伸	68℃	60 sec/kb	
终延伸	68℃	5 min	

⚠ 注：请使用高质量的模板，若产量较低可适当提高模板的使用量；推荐使用长引物。

400-820-2141
莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.
Tel: +86-(0)21-64868889
Fax: +86-(0)21-64868669
E-mail: support@monadbiotech.com
www.monadbiotech.com
最终解释权所有 © 莫纳生物科技有限公司，保留一切权利

4. 粗样品扩增指南

MonAmp™ 2× MonHI-FI Max Mix 对许多 PCR 抑制剂具有良好的抵抗能力，可用于细菌、真菌、植物组织、动物组织或全血样品的直接 PCR。

样品类型	扩增方式	推荐操作方式（50 μl 体系）
全血	直接扩增	吸取 1~5 μl 作为扩增模板
滤纸干血清	直接扩增	剪取 1~2 mm^2 滤纸作为扩增模板
培养细胞	直接扩增	取少量细胞作为扩增模板
酵母 / 细菌	直接扩增	挑取单克隆或 1 μl 菌液作为扩增模板
霉菌	直接扩增	挑取少量作为扩增模板
精液	直接扩增	挑取少量作为扩增模板
浮游生物	直接扩增	挑取少量作为扩增模板
植物组织	直接扩增	剪取 1~2 mm^2 组织作为扩增模板
小鼠尾巴	裂解后吸取裂解液扩增	吸取 1~5 μl 裂解液作为扩增模板
食品	裂解后吸取裂解液扩增	吸取 1~5 μl 裂解液作为扩增模板

⚠ 注：建议使用以下方法进行样品裂解液制备，取少量动物组织 / 食品样品浸泡于 100 μl Lysis Buffer (20 mM Tris-HCl，100 mM NaCl，1 mM EDTA，0.1%SDS，pH=8.0) 中，补加蛋白酶 K 至终浓度 200 μg/ml，经 60℃温育 10 min，95℃温育 10 min 后混匀并离心取上清作为扩增模板。

5. 引物设计原则

① 引物的 GC 含量控制在 40%~60% 之间；
② 引物 3' 端应避免出现发夹结构；
③ 引物内部或者两条引物之间避免有 5 个碱基以上的互补序列，两条引物的 3' 端避免有 3 个碱基以上的互补序列；
④ 正向引物和反向引物的 Tm 值相差不超过 1℃为佳，Tm 值调整至 55~ 65℃ 为佳（引物 Tm 值推荐使用 Primer Premier 5 进行计算）；
⑤ 使用 NCBI BLAST 功能检索引物特异性，以避免非特异性扩增产生。

注意事项

1. 请使用高质量的模板；
2. 请勿使用 dUTP 和带有尿嘧啶的引物和模板；
3. 如果扩增产物需要进行 T/A 克隆，加 A 之前请进行 DNA 纯化。

常见问题

问题描述	可能原因	解决办法
无产物或产物量少	退火温度	设置退火温度梯度，找到合适的退火温度
	引物浓度	适当提高引物浓度
	延伸时间	适当增加延伸时间至 30~60 sec/kb
	循环数	增加循环数至 35~40 个循环
	模板纯度	使用高纯度模板
	模板使用量	使用量可参照反应体系推荐量并适量增加
有杂带或弥散条带	引物特异性	优化引物设计，提高特异性
	退火温度	尝试提高退火温度并设置退火温度梯度
	引物浓度	降低引物浓度至终浓度为 0.2 μM
	延伸时间	有大于目标条带的杂带时可适当减少延伸时间
	循环数	减少循环数至 25~30 个循环
	反应程序	使用两步法或 Touch down PCR 程序
	模板纯度	使用高纯度模板
	模板使用量	使用量参照反应体系推荐量调整或适当减少

400-820-2141
莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.
Tel: +86-(0)21-64868889
Fax: +86-(0)21-64868669
E-mail: support@monadbiotech.com
www.monadbiotech.com
最终解释权所有 © 莫纳生物科技有限公司，保留一切权利