

Hướng Dẫn Sử Dụng

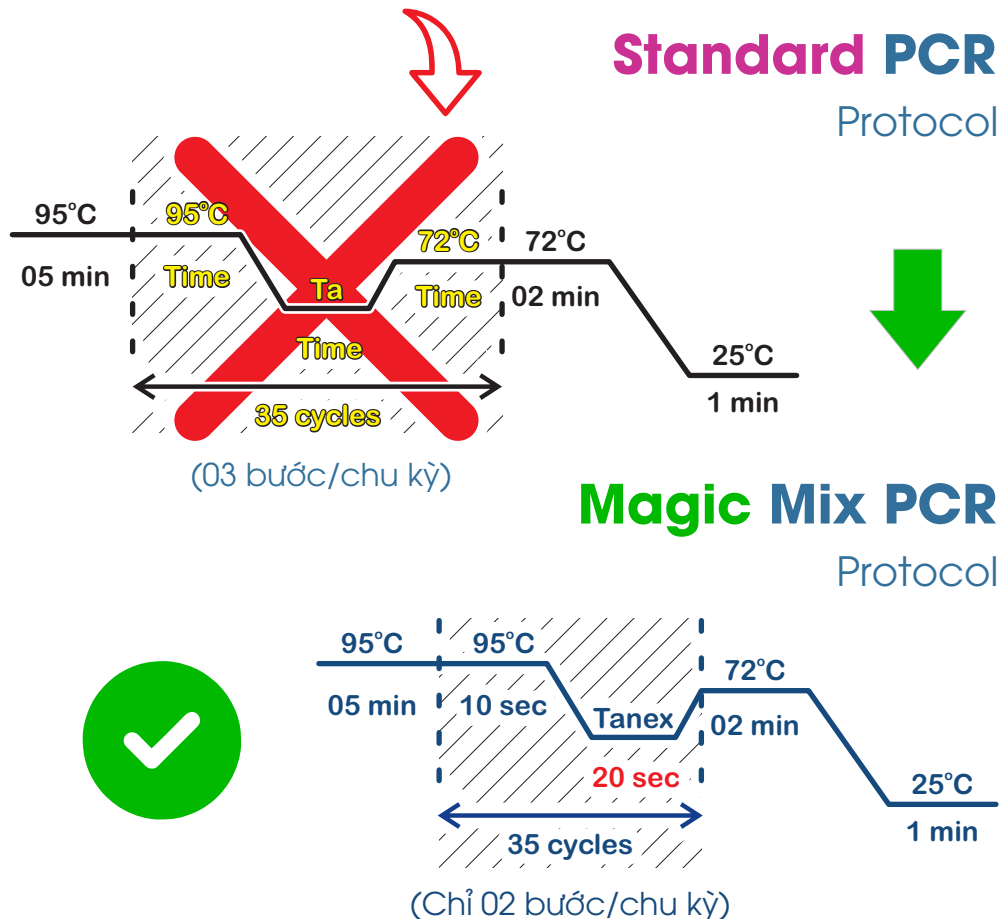
MAGIC MIX PCR 2X (MGM 2X)

QUAN TRỌNG: Xin đọc kỹ hướng dẫn sử dụng trước khi sử dụng sản phẩm MGM 2X

1. TỔNG QUAN

PHUSA Genomics MAGIC Mix MGM 2X là hỗn hợp HOT-START PCR với các đặc tính kỹ thuật như sau:

- Hoạt động ở 02 mức nhiệt độ: 95°C cho giai đoạn biến tính (Denaturation), giai đoạn **Tanex** (Giai đoạn bắt cặp - Annealing và kéo dài - Extension) từ 50°C đến 60°C cho bất kỳ loại mẫu nào có Tm từ 45°C đến 70°C;
- **Sản phẩm MGM 2X có phạm vi khuếch đại tối ưu từ 100 bp đến 2000 bp;**
- **Không cần trải qua giai đoạn kéo dài 72°C Extension.**



2. XỬ LÝ & LƯU TRỮ:

- Khi vận chuyển: MGM 2X có thể được giữ ở mức nhiệt độ phòng (30°C - 37°C) trong khoảng 07 ngày;
- Khi bảo quản ngắn hạn (khoảng 30 ngày): Mức nhiệt độ từ 4°C - 10°C;
- Khi bảo quản dài hạn (khoảng 01 năm): Mức nhiệt độ từ -20°C - 0°C;
- Khi sử dụng trong phòng thí nghiệm: Ở mức nhiệt độ phòng.

3. CHUẨN BỊ HỖN HỢP PCR

Trước khi chuẩn bị hỗn hợp PCR cần trộn đều tube Magic Mix PCR bằng máy Vortex, sau đó ly tâm nhẹ để kéo toàn bộ dung dịch xuống đáy tube.

Để có được kết quả PCR tốt nhất, chúng tôi khuyến nghị phạm vi thể tích của các thành phần cho từng loại thể tích phản ứng PCR ở các mục 3.1, 3.2 và 3.3.

3.1 Cho thể tích phản ứng PCR từ 27 - 30 μ L

Chuẩn bị các thành phần cho hỗn hợp PCR Mix theo bảng dưới đây:

Thành phần	Nồng độ	Thể tích sử dụng cho 1 phản ứng (μ L)
MGM 2X	2X	15
Nước DEPC		10
Mồi xuôi	10 pmol/ μ L	1
Mồi ngược	10 pmol/ μ L	1
Mẫu thử		2 - 3
Tổng thể tích		29 - 30

3.2 Cho thể tích phản ứng PCR 20 μ L

Chuẩn bị các thành phần cho hỗn hợp PCR Mix theo bảng dưới đây:

Thành phần	Nồng độ	Thể tích sử dụng cho 1 phản ứng (μ L)
MGM 2X	2X	10
Nước DEPC		5.5
Mồi xuôi	10 pmol/ μ L	0.75
Mồi ngược	10 pmol/ μ L	0.75
Mẫu thử		2 - 3
Tổng thể tích		19 - 20

3.3 Cho thể tích phản ứng PCR 15 μ L

Chuẩn bị các thành phần cho hỗn hợp PCR Mix theo bảng dưới đây:

Thành phần	Nồng độ	Thể tích sử dụng cho 1 phản ứng (μ L)
MGM 2X	2X	7.5
Nước DEPC		3.5
Mồi xuôi	10 pmol/ μ L	0.5
Mồi ngược	10 pmol/ μ L	0.5
Mẫu thử		2 - 3
Tổng thể tích		14 - 15

Sau khi đã chuẩn bị hỗn hợp PCR xong, tiếp theo thực hiện các bước sau:

- Trộn đều hỗn hợp PCR trên máy Vortex, phân phối hỗn hợp vào từng tube PCR;
- Thêm 2 - 3 uL mẫu thử (DNA ly trích) vào tube PCR;
- Ly tâm nhẹ để kéo toàn bộ dung dịch xuống dưới đáy tube PCR.

4. THIẾT LẬP PHẢN ỨNG PCR

Tanex là nhiệt độ hoạt động của MGM 2X, qua đó **giai đoạn bắt cặp và kéo dài** sẽ được thực hiện ở bất kỳ nhiệt độ nào trong khoảng từ **40°C đến 60°C**.

4.1 Sử dụng cho đoạn gene mục tiêu có chiều dài đến 2000 bp

Ở CHẾ ĐỘ ĐA MỤC TIÊU, MGM 2X sẽ giúp người dùng thực hiện nhiều hỗn hợp PCR trong cùng một lần chạy bất kể Tm của các đoạn mồi (có thể thay đổi giao động từ 45°C đến 70°C).

- Ở chế độ **Đơn** hay **Đa Mục Tiêu**, nếu nhiệt độ Tm của mồi trong khoảng từ 45°C đến 70°C, thì nhiệt độ **Tanex = 50°C** sẽ cho kết quả tốt nhất.
- MGM 2X cho phép sử dụng mồi có nhiệt độ trên lệch nhau đến 25°C.

Sử dụng công thức tổng quát trong bảng bên dưới cho tất cả các loại mồi có khoảng nhiệt độ Tm từ 45°C đến 70°C:

Giai đoạn	Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
Biến tính	95°C	05 phút	1
Biến tính	95°C	10 giây	30 - 35
Tanex (Bắt cặp/ Kéo dài)*	50°C	20 giây**	
Kéo dài	72°C	02 phút	1
Bảo quản	25°C	30 giây	

Trường hợp cặp mồi không tạo ra sản phẩm PCR hoặc cho ra sản phẩm không đặc hiệu với band bị kéo vệt, khi ấy cần tiến hành lại phản ứng PCR với nhiệt độ Tanex = 60°C. **Tham khảo thêm Technical Guide** ở trang 4.

* Giai đoạn kéo dài 72°C extension không còn sử dụng;

** Chiều dài đoạn gen mục tiêu trong khoảng **từ 100 đến 2000 bp**, thời gian Tanex đã được tối ưu hoá ở **20 giây** mà **“không cần điều chỉnh”**.

Ở CHẾ ĐỘ ĐA MÔI (nhiều cặp môi trong cùng một phản ứng PCR), nhiệt độ **Tanex = 60°C** nên được sử dụng cho các môi có **Tm khác biệt nhau từ 50°C đến 70°C**.

4.2 Đoạn gene mục tiêu từ 2000 bp đến 3000 bp

Sử dụng công thức tổng quát trong bảng bên dưới cho tất cả các loại môi có khoảng nhiệt độ Tm từ 45°C đến 70°C:

Giai đoạn	Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
Biến tính	95°C	05 phút	1
Biến tính	93°C	20 giây	30 - 35
Tanex (Bắt cặp/ Kéo dài)*	60°C	30 giây**	
Kéo dài	72°C	03 phút	1
Bảo quản	25°C	30 giây	

* Giai đoạn kéo dài 72°C extension không còn sử dụng;

** Đoạn gen mục tiêu có chiều dài từ **2000 đến 3000 bp**, thời gian Tanex đã được tối ưu hoá ở **30 giây** mà "**không cần điều chỉnh**".

- HẾT -



Magic Mix PCR
Technical Guide Book