

Gloria U 2X Mix for NGS

目录: RK20723

规格: 1 mL / 5 × 1 mL (50 µL/RXN)

产品组成:

Gloria U 2X Mix for NGS	RM20410
-------------------------	---------

产品说明

Gloria U 热启动 DNA 聚合酶是典型的 B 家族聚合酶, 具有独特的结果, 通过对 Gloria 聚合酶的分子改造, 使得 Gloria 聚合酶尿嘧啶的结合能力失活, 因而 Gloria U 可以高效扩增亚硫酸氢盐处理过 DNA 或者含有尿嘧啶的文库。该酶显示出了与 Gloria Nova 热启动 DNA 聚合酶相同的高产量、低 GC 偏差和覆盖均一性。Gloria U 2X Mix for NGS 有 5' -3' 持续合成活性和 3' → 5' 外切核酸酶 (校正) 活性, 可用于含有尿嘧啶的模板扩增或者含有尿嘧啶的文库扩增。

产品组分

组分	规格	规格
Gloria U 2X Mix for NGS	1 mL	5 × 1 mL

保存条件: -20°C

操作方法

在打开前, 仔细混匀并离心所有试管, 以确保均匀。

推荐冰上配制反应体系, 将该体系快速转移到 98°C 预热的 PCR 中。请参考以下反应, 以 50 µL 反应体系为例。

推荐 PCR 反应体系

组分	50 µL	终浓度
Gloria U 2X Mix for NGS	25 µL	1X
上游引物 (20 µM)	1-2 µL	0.4-0.8 µM
下游引物 (20 µM)	1-2 µL	0.4-0.8 µM
DNA 模板*	Variable	
Nuclease-Free Water	to 50 µL	N/A

*此处模板指的是含有尿嘧啶模板或者文库

注意: 温和混匀反应体系, 如果必要可以通过短暂快速离心将试剂收集到管底。若用户使用无热盖的 PCR 仪, 可以在反应体系表面覆盖一层矿物油。

*, 注: 不同 DNA 模板最佳反应浓度不同, 可参考 PCR 基本原则。

推荐的 PCR 反应程序如下

步骤	温度	时间	循环数
预变性	98 °C	45 s	1
变性	98 °C	10 s	根据投入量, 推荐循环数
退火	55-65 °C	30s-1 min	
延伸	72 °C	30-60 s/kb	
终延伸	72 °C	1-5 min	1
Hold	4-12 °C	∞	1

根据投入量选择不同的循环数

Input Bisulfite gDNA	PCR 循环数推荐
5ng	15-16
25ng	11-12
50ng	9-10
100ng	8-9
200ng	7-8
Input FFPE DNA	PCR 循环数推荐
5ng	16-17
25ng	12-13
50ng	10-11
100ng	9-10
200ng	8-9
Input cfDNA	PCR 循环数推荐
10ng	16-17

产品应用

1. 亚硫酸氢盐转化的 DNA 的扩增

亚硫酸氢钠处理将未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶, 而甲基化的胞嘧啶不会被转化。在随后的 PCR 扩增过程中, 胸腺嘧啶替换尿嘧啶, 使得可以通过测序将 DNA 甲基化精确到碱基对水平。Gloria U 2X Mix for NGS 聚合酶能够提供高产量的亚硫酸氢盐转化的 DNA, 并可进行稳定扩增。

2. 扩增受损的 DNA 样本

胞嘧啶脱氨作用会在一段较长的时间内自行发生, 温度升高时脱氨速度加快, 并导致 DNA 和游离核苷酸中尿嘧啶的累积。当其他校正酶无效时, Gloria U 2X HS Master Mix 聚合酶可以从含有尿嘧啶的受损 DNA 模板中进行高保真扩增。