货号：FM5161

5×Robustart Premix-UNG (Probe qPCR) (DG)

2026V01

产品概述

Robustart Premix-UNG (Probe qPCR) (DG)是专为冻干工艺开发的，采用探针法进行 Real Time PCR 定性、定量反应的专用试剂。含有常温下 Taq 酶活性被封闭的热启动酶 Robustart Taq (DG)，能够有效抑制低温条件下引物非特异性退火或者引物聚体引起的非特异性扩增，提高扩增反应的特异性。本试剂采用优化配方的 qPCR 专用 Buffer 和 UNG/dUTP 防污染系统，可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线，准确进行定量，能够有效防止 PCR 产物残留、气溶胶污染导致的假阳性扩增。本试剂与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容，如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。本试剂冻干后具有良好的冻干形态及产品稳定性。

试剂组成

1. 5×Robustart Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG)
2. 250 mM $MgCl_2$
3. 4×冻干保护剂（选配）

保存条件

-20±5°C存储；使用前应混匀，避免反复冻融。

反应条件

普通 PCR 程序			
步骤	温度	时长	循环数
消化	50°C	2 min	1
热启动	95°C	1~5 min	1
变性	95°C	10~20 s	40~50
退火延伸	56~64°C	20~60 s	

qPCR 液体反应体系配制

试剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
5×Robustart Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG)	5 μL	10 μL	1×
250 mM $MgCl_2$	0.45 μL	0.9 μL	4.5 mM
4×冻干保护剂 [1]	6.25 μL	12.5 μL	1×
25×Primer-Probe Mix [2]	1 μL	2 μL	1×
Template DNA [3]	——	——	——
ddH_2O	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 此体系为可冻干体系，当客户使用此体系无冻干需求时，4×冻干保护剂可以选择性加入；如若有冻干产品需要，在液体试剂阶段进行产品性能验证时，必需加入 4×冻干保护剂，以保证与冻干后体系组分及效果一致。

2. 通常引物终浓度为 0.2 μM 可以得到较好结果；反应性能较差时，可以在 0.2～1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1～0.3 μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验，寻找引物和探针的最佳组合。

3. 不同种类的 DNA 模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的 DNA 模板添加量。

货号：FM5161

5×Robustart Premix-UNG (Probe qPCR) (DG)

2026V01

体系用于冻干时，冻干体系配制

试剂	25 μL 体系
5×Robustart Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG)	5 μL
250 mM $MgCl_2$	0.45 μL
4×冻干保护剂	6.25 μL
25×Primer-Probe Mix	1 μL
ddH_2O	To 18~20 μL

***如需其他体系冻干配制，请另询。**

冻干条件

步骤	温度	时长	状态	压强
预冻	4°C	30 min	Hold	1 atm
	-50°C	60 min	降温	
	-50°C	180 min	Hold	
一次升华	-30°C	60 min	升温	极限真空
	-30°C	720 min	Hold	
二次升华	25°C	60 min	升温	极限真空
	25°C	300 min	Hold	

1. 此冻干工艺为 **25 μL 体系**原位冻干工艺，如需进行冻干珠的冻干或其他体系原位冻干，请另询。
2. 以上冻干工艺仅作参考。产品类型不同、使用不同的冻干机，冻干参数有差异，使用过程中可根据实际对工艺进行调整。
3. 不同的冻干工艺有可能适用于不同的冻干批量，用于大批量生产时务必进行充分的测试验证。

冻干粉使用方法

1. 将冻干粉进行瞬时离心；
2. 向冻干粉中加入核酸模板，并加水补足至 25 μL；
3. 混匀离心，上机。

*推荐使用宝泰仪公司混匀离心一体机 CM-8 或 CM-8 Plus 进行标准化的离心混匀操作。

质量控制

1. 功能检测：qPCR 的敏感性、特异性、可重复性。
2. 无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明

1. Robustart Premix-UNG (Probe qPCR) (DG) 采用热启动酶，可以实现 1~5 min 快速热启动；经过 Buffer 体系的特殊配制，适合于多重荧光定量 PCR 反应。
2. 具有更高的特异性，能够显著提升荧光定量 PCR 极限检测的灵敏度，使极低浓度模板的扩增曲线归一性、荧光值获得明显改善，适合用作高灵敏度荧光定量 PCR 检测试剂。
3. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。
4. 不同待扩增基因对 dUTP 的利用效率和对 UNG 酶的敏感度不同，因此，如果采用 UNG 体系导致检测灵敏度下降，应对反应体系进行调整优化，如需技术支持请与我公司联系。
5. 扩增前后请使用专用的区域和移液器，戴手套操作并经常更换；PCR 反应完成后切勿打开反应管，以最大限度地减少 PCR 产物对样品的污染。