货号：FM5281-002902

5×Robustart ARMS Gene-typing Premix-UNG (Probe qPCR) (DG) (002902) 2026V01

产品概述

Robustart ARMS Gene-typing Premix-UNG (Probe qPCR) (DG) (002902)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。本试剂含有常温下完全封闭 Taq 酶活性的热启动 Robustart Taq HD，可以催化 5’至 3’方向严格依赖于 DNA 模板和碱基配对原则的高特异性的扩增反应，适合用于特异性要求更高的突变位点检测，尤其适合于 ARMS PCR 荧光定量检测。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 ARMS Gene-typing Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG) (002902)
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

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 ARMS Gene-typing Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG) (002902)	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。

体系用于冻干时，冻干体系配制

试剂	25 μL 体系
5×Robustart ARMS Gene-typing Premix-UNG (Mg^{2+} free) (DG) (002902)	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	210 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	
	35°C	60 min	升温	
	35°C	180 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 ARMS Gene-typing Premix-UNG (Probe qPCR) (DG) (002902)采用新型热启动酶，可以实现 1~5 min 快速热启动；经过 Buffer 体系的特殊配制，适合于单重、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. 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。