货号：M216-3

2×Robustart Premix Omni III (Probe qPCR)

2023V01

产品概述

Robustart Premix Omni III(Probe qPCR) 是采用探针法进行 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，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，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。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。

试剂组成

2×Robustart Premix Omni III (Probe qPCR)

*本试剂已含有 Robustart Taq、PCR Buffer、$MgCl_2$、dNTPs、稳定剂等成分。

保存条件

-20℃长期保存，4℃可保存 3 个月。使用前应混匀，避免反复冻融。

qPCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×Robustart Premix Omni III (Probe qPCR)	12.5 μL	25 μL	1×
25×Primer-Probe Mix [1]	1 μL	2 μL	1×
Template DNA [2]	——	——	——
ddH_2O	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 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。
2. 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。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
热启动	95℃	1~5 min	1
变性	95℃	10~20 s	40~50
退火延伸	56~64℃	20~60 s	

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. 2×Robustart Premix Omni III (Probe qPCR)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. 该体系具有良好的适用性，对不同 GC 含量（GC 50%~80%）的模板都能实现很好的扩增，可以用于高 GC 模板的探针法荧光定量检测。
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。