货号：PM2011

2×Robustart Multi Premix-UNG

2023V01

BiOri 宝锐生物

产品概述

Robustart Multi Premix-UNG 是适用于各种来源的核酸提取纯化模板的 DNA 多重扩增检测专用试剂。本品具有更高的特异性和灵敏度，能够在多引物对存在的条件下，实现对多重模板的有效扩增。另外，本品经过特殊优化，对含有高 GC 片段等复杂结构的模板，也能够实现有效扩增。本试剂采用 UNG/dUTP 防污染系统，能够有效防止 PCR 产物残留、气溶胶污染导致的假阳性扩增。

试剂组成

2×Robustart Multi Premix-UNG

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

保存条件

-20°C长期保存，4°C可保存 3 个月。使用前应混匀，避免反复冻融。

PCR 反应体系配制

试 剂	25 μL 体系	50 μL 体系	终浓度
2×Robustart Multi Premix-UNG	12.5 μL	25 μL	1×
10×Primer Mix（1 μM）[1]	2.5 μL	5 μL	1×
Template DNA [2,3,4]	——	——	——
Nuclease-free water	To 25 μL	To 50 μL	——

1. 多重引物 10×Primer Mix：预先混合所有扩增引物，使其中每条引物的浓度为 1 μM。引物终浓度可在 0.05~0.5 μM 之间调整。
2. 反应中模板 DNA 加入量：一般人基因组≤ 100 ng 或适量。
3. 本品推荐用于扩增 1 kb 以内长度的片段。
4. 反应结束后，对于 1 kb 以内的扩增产物，可采用 3 %～4 %的琼脂糖凝胶电泳分析。

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	30 s	25~40
退火	55~65°C	45~90 s	
延伸	72°C	X sec/kb *	
延伸	72°C	7 min	1
——	4°C	Hold	——

*X 为按照最大片段 60 sec/kb 计算。

质量控制

1. 功能检测：PCR 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。

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址:www.biori.com
咨询电话:0756-8699969
邮箱:marketing@biori.com.cn
地址:珠海市香洲区南屏科技园屏北一路333号

常见问题及解答

1. 扩增产物少或没有扩增。
   (1) 建议使用高质量的引物。
   (2) 增加 PCR 循环数。
   (3) 降低退火温度，必要时进行退火温度梯度尝试。延长延伸时间至 120 sec/kb（按照最大片段算）可增加扩增产物量。
   (4) 检查单对引物的扩增性能和特异性。
   (5) 产物过长时建议重新设计引物，产物长度不应超过 1 kb。
   (6) 延长循环内延伸时间。
   (7) 提高低产或缺失扩增子引物使用量。
   (8) 当多重扩增中含有高 GC 片段时，应设计各引物的 Tm 相近，优选在 65~72°C；反应退火温度在 60~68°C调整。

2. 存在非特异性扩增。
   (1) 减少循环数。
   (2) 提高退火温度。
   (3) 减少引物使用量。
   (4) 优化引物设计。