

ARMS PCR Mix II

货号: P4011b, P4012b

产品简介

ARMS PCR Mix II 是针对 ARMS PCR 开发的 2× PCR Mix 溶液, 含有抗体修饰的热启动型 Taq DNA 聚合酶、dNTPs、高离子浓度缓冲液等 PCR 扩增必需组分(模板与引物除外)。使用时仅需在扩增体系中加入模板和引物即可进行 PCR, 大大简化操作过程, 缩短操作时间, 降低污染(加样次数减少)。ARMS PCR Mix 的反应体系经特殊优化, 减少错配引物扩增产物的形成, 显著提高 PCR 扩增的特异性。本产品可以用于常规 PCR 电泳及 Real Time PCR 进行 ARMS-PCR 检测。

ARMS-PCR (扩增反应突变系统 PCR) 是一种诊断技术, 用于检测 DNA 样本中特定的突变或基因变异。该技术使用引物仅扩增突变等位基因而不扩增野生型等位基因。通过针对特定突变, ARMS-PCR 可用于鉴定致病突变、监测疾病进展并研究人群基因变异。它是一种高度敏感和特异性的方法, 在遗传学测试和个性化医学领域被广泛应用。

产品组成

Component	P4011b	P4012b
2× ARMS PCR Mix II	1 mL	1 mL× 5
超纯水	1 mL	1 mL× 5

保存条件

-20℃保存 2 年。

质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: PCR 方法检测无宿主残余 DNA, 能有效扩增 10ng 以上人基因组 DNA。

应用举例

1. 配制反应体系

请于冰上或常温配置反应体系, 体系大小与组分用量与添加顺序可调整:

Ordinal	Component	Volume (50 µL reaction volume)	Final concentration (50 µL reaction volume)
1	2× ARMS PCR Mix II ^[1]	25 µL	1×
2	upstream primer (10 µM) ^[2]	2 µL	0.4 µM
3	downstream primer (10 µM) ^[2]	2 µL	0.4 µM
4	template DNA ^[3]	1-4 µL	>10ng
5	超纯水 ^[4]	To 50 µL	-

[1] 根据实验需要调整 ARMS PCR Mix 用量, 降低终浓度可提高反应特异性, 提高终浓度可提高反应效率。

[2] 引物终浓度建议范围: 0.1-1 µM。特异性差时可降低浓度, 效率低时可提高浓度。

[3] 不同 DNA、引物组合最佳用量不同, 人 DNA 模板通常 10ng 以上。

[4] 可单独订购超纯水 (Cat. #: P9021/P9022/P9023)。

2. 设定反应程序进行 PCR 反应

常规 PCR 参考程序:

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	95℃	3 min	1
Denaturation	95℃	30 sec	32
Annealing	60℃	30 sec	
Extension	72℃	30 sec	
Final Extension	72℃	5 min	1

Real-Time PCR 参考程序:

Stage	Temperature	Time	Number of Cycles
Initial Denaturation	95℃	3 min	1
Denaturation	95℃	30 sec	40
Annealing	60℃	30 sec	
Extension	70℃ ^[1]	30 sec	

[1] fluorescence collection.

3. 分析结果

可以采用各种 PCR 产物检测方法如 qPCR、凝胶电泳、Sanger 测序等方法。

注意事项

- 1、存储条件：该产品应存放在-20℃低温冷冻保存，避免多次冻融。
- 2、反应体系制备：将 2x ARMS PCR Mix 与引物、样品 DNA 和 H₂O 混合均匀即可。建议根据模板 DNA 浓度优化反应组分比例。
- 3、试剂稳定性：开封后，4℃仅限于一个月使用期，超过使用期限后不保证反应效果。
- 4、温度和时间：在 PCR 反应开始前，请确认 PCR 仪的准确温度。PCR 反应最常见的温度区间是 55℃至 65℃。最佳的扩增时间通常为 30 秒至 1 分钟。合适的循环次数和延伸时间可以根据需要调整。
- 5、至少含有一个阳性对照和一个阴性对照。
- 6、PCR 产物检测：可以采用各种 PCR 产物检测方法如凝胶电泳、Sanger 测序等方法。
- 7、ARMS PCR 引物设计的一些注意事项：
 - 7.1 引物长度：引物一般应在 18-25 个碱基对之间，太短容易造成非特异性扩增，太长则会影响扩增效率。
 - 7.2 引物比例：ARMS PCR 反应中，外部引物与内部引物应当严格按照一定的比例使用。通常情况下，外部引物的浓度应当略高于内部引物。
 - 7.3 选择反向互补区域：这是指在基因序列中，将可变剪切位点（SNP）作为分界线，分别设计出两个“外部”引物和两个“内部”引物。其中，外部引物分别与靠近 SNP 的两段 DNA 序列相匹配，而内部引物则要与被扩增序列（目标 DNA）中间位置的 DNA 序列相匹配，并且尽可能接近 SNP。
 - 7.4 降低非特异性扩增的风险：在设计 ARMS PCR 引物时需要避免与非目标序列产生交叉杂交。这可以通过调整 PCR 反应条件、筛选合适的模板 DNA 和优化引物设计等方法来实现。
 - 7.5 设计多组 ARMS PCR 引物：由于不同基因存在不同的可变位点（SNP），因此需要设计多组 ARMS PCR 引物，针对不同基因中的可变位点进行扩增。
 - 7.6 引物序列纯度：要确保引物的序列纯度高，尤其是在有多个 SNP 位点的情况下，避免 SNP 间的交叉污染。
 - 7.7 试验验证：通过测序、凝胶电泳等方法验证 ARMS PCR 引物的特异性和灵敏性，以确保扩增目标 DNA 序列。