

Hifair® C203P1 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG Plus)

产品简介

Hifair® Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG Plus)是以 RNA 为模板进行多重定量 PCR 反应的试剂盒。在实验的过程中，逆转录和定量 PCR 在同一反应管中进行，简化了实验操作，降低了污染的风险。

本试剂盒利用耐热 Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并利用 HotStart Taq DNA Polymerase 进行定量扩增。本试剂盒主要包含优化的 MP Buffer, Enzymes Mix, GC-Enhancer 等，缓冲液中已含有 Mg^{2+} 和 dNTPs，有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子和提升多重 qPCR 反应扩增效率的因子，能够在保证引物扩增效率的同时，进行多重扩增反应。并添加了 dUTP/UDG 系统，可有效防止气溶胶污染的风险。

产品信息

货号	16630ES60 / 16630ES80 / 16630ES92
规格	100 T / 1000 T / 10000 T

组分信息

组分编号	组分名称	16630ES60 (100 T)	16630ES80 (1000 T)	16630ES92 (10000 T)
16630-A	5×Hifair® MP Buffer	500 μ L	5 mL	50 mL
16630-B	Hifair® Enzyme Mix	100 μ L	1 mL	10 mL
16630-C	GC-Enhancer	500 μ L	5 mL	50 mL

- 【注】**
- 5×Hifair® MP Buffer 为 Hifair® C203P1 Multiplex One Step RT-qPCR Probe buffer 的简写。
 - Hifair® Enzyme Mix 主要包含有耐热 Reverse Transcriptase 和 HotStart Taq DNA Polymerase, RNaseinhibitor, UDGase 等。
 - GC-Enhancer 可根据情况决定是否在体系中添加。

储存条件

-25~-15°C保存，有效期 1 年。

使用说明

1. 反应体系（以 25 μ L 为例）

组分	体积 (μ L)	终浓度
5×Hifair® MP Buffer	5	1×
Hifair® Enzyme Mix	1	-
GC-Enhancer	0-5	-
Primer Mix (10 μ M)	各 0.4	0.16 μ M
Probe Mix (10 μ M)	各 0.2	0.08 μ M
模板 RNA	1-5	-
RNase Free H ₂ O	to 25	-

【注】使用前务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。

- GC-Enhancer:** 是一种创新型多功能基因扩增的辅助试剂，主要应用于高 GC 含量模板 (>70%)、非特异性条带严重的 PCR 扩增，可降低引物二聚体、减少非特异性扩增、提高扩增效率。GC-Enhancer 可能会对引物模板配对的稳定性有一定影响，需根据情况确定是否添加。
- 引物浓度:** Primer Mix 中包含多对引物，通常每条引物终浓度可以根据情况在 0.1-1.0 μ M 间进行调整。
- 探针浓度:** Probe Mix 中包含多条不同荧光信号的探针，每条探针的浓度可根据具体情况在 50-300 nM 间调整。
- 模板稀释:** qPCR 灵敏度极高，建议将模板进行稀释使用，控制 Ct 值在 20-35 之间适宜。

5. **反应体系**: 推荐使用 25 μ L 或 50 μ L, 以保证目的基因扩增的有效性和重复性。

6. **体系配制**: 请于超净工作台内配制, 并使用无核酸酶残留的枪头、反应管; 推荐使用带滤芯的枪头; 避免交叉污染和气溶胶污染。

2. 参考扩增程序

标准程序

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C ^a	15 min	1
预变性	95°C	5 min	1
扩增反应	95°C	15 sec	45
	60°C ^b	30 sec ^c	

【注】a. 逆转录: 50°C 或者 55°C 均可, 时间 10–15 min。

b. 扩增反应: 扩增反应温度根据设计的引物 T_m 值进行调整。

c. 荧光信号采集: 不同的 qPCR 检测仪器所需的荧光信号采集时间不同, 请根据最短时间限制进行设置。

快速程序

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C	5 min	1
预变性	95°C	30 sec	1
扩增反应	95°C	5 sec	45
	60°C	20 sec ^d	

【注】d. 快速程序: 实际使用的 qPCR 检测仪器是否支持快速扩增, 请进行预实验确认。

3. 适用机型

ABI 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne™, StepOne Plus™, ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™ 3 and 5, QuantStudio™ 6, 7, 12k Flex;

Stratagene MX3000P™, MX3005P™, MX4000P™;

Bio-Rad CFX96™, CFX384™, iCycler iQ™, iQ™5, MyiQ™, MiniOpticon™, Opticon®, Opticon® 2, Chromo4™;

Eppendorf Mastercycler® ep realplex, realplex 2 s;

Qiagen Corbett Rotor-Gene® Q, Rotor-Gene® 3000, Rotor-Gene® 6000;

Roche Applied Science LightCycler® 480, LightCycler® 2.0; Lightcycler® 96;

Thermo Scientific PikoReal Cycler; **Cepheid** SmartCycler®; **Illumina** Eco qPCR

注意事项

1. 实验过程中请使用 RNase free 耗材。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。