

# Hifair® Superpro II One Step RT-qPCR Master Mix

## 产品简介

Hifair® Superpro II One Step RT-qPCR Master Mix 是以 RNA 为模板进行单重或多重定量 PCR 反应的一管式全预混试剂盒。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。

本试剂盒采用了新一代抗体法热启动酶、耐热 Hifair® V Reverse Transcriptase 和针对一管式全预混 RT-qPCR 的特殊缓冲体系，实现引物探针提前预混，配成的反应液使用时只需加入模板即可。同时添加了 dUTP/UDG 系统，可有效防止气溶胶污染的风险。

## 产品信息

货号	11899ES50 / 11899ES60 / 11899ES80 / 11899ES92
规格	50 T / 100 T / 1000 T / 10000 T

## 组分信息

组分编号	组分名称	11899ES50 (50 T)	11899ES60 (100 T)	11899ES80 (1000 T)	11899ES92 (10000 T)
11899	2×Hifair® Superpro II Master Mix	700 $\mu$ L	1.4 mL	14 mL	140 mL

**【注】** 2×Hifair® Superpro II Master mix 为 Hifair® Superpro II One Step RT-qPCR Master Mix 的简写，其中包含 dNTPs, dUTP,  $Mg^{2+}$ , stabilizers, enhancers, Hifair® V Reverse Transcriptase, UNICON® HotStart Taq DNA Polymerase 和 UDGase 等。

## 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 $\mu$ L 为例）

组分	体积 ( $\mu$ L)	终浓度
2×Hifair® Superpro II Master Mix	14 *	1×
Primer & Probe Mix	1 **	0.4 $\mu$ M
模板 RNA	10 ***	-
总体积	25	-

\* 预混液添加体积为 14  $\mu$ L 时，含引物探针的预混效果最好。

\*\* 引物探针的体积为 1  $\mu$ L 时，含引物探针的预混效果最好。

\*\*\* 产品形式为含引物探针的全预混形式时，模板的添加量不建议小于 10  $\mu$ L，否则全预混的稳定性效果和预期可能会有偏差。

**【注】** 1). 已验证过在该产品中加入引物探针的全预混液在 37°C 放置 5 天性能不下降。但是不同引物探针的预混稳定性不一致，若全预混稳定性效果较差，建议更换引物探针进一步测试。

2). Primer & Probe Mix 中包含多对引物和探针，通常每条引物终浓度可以根据情况在 0.1-1.0  $\mu$ M 间进行调整；探针终浓度也可以根据对荧光曲线和荧光增峰的要求在 0.05-0.5  $\mu$ M 范围内进行调整。

3). qPCR 灵敏度极高，建议将模板进行稀释使用，控制 Ct 在 20-35 之间适宜。

4). 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

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C <sup>a</sup>	10 min	1
预变性	95°C	5 min	1
扩增反应	95°C	15 sec	40-45 cycles
	60°C <sup>b</sup>	30 sec <sup>c</sup>	

**【注】a. 逆转录:** 42°C或者 50°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<sub>m</sub> 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。

## 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。