

# Hifair® V C58P2 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG Plus)

## 产品简介

Hifair® V C58P2 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 Hifair® V Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并利用 UNICON® 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 等，缓冲液中已含有  $Mg^{2+}$  和 dNTPs，以及有效抑制非特异性 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。此外，该预混液添加了 dUTP/UDG 系统，可有效防止气溶胶污染。

## 产品信息

货号	13650ES50 / 13650ES60 / 13650ES80 / 13650ES92
规格	50 T / 100 T / 1000 T / 10000 T

## 组分信息

组分编号	组分名称	13650ES50 (50 T)	13650ES60 (100 T)	13650ES80 (1000 T)	13650ES92 (10000 T)
13650-A	2×Hifair® V C58P2 MP Buffer	750 $\mu$ L	1.5 mL	15 mL	150 mL
13650-B	Hifair® V C58P2 Enzyme Mix	60 $\mu$ L	120 $\mu$ L	1.2 mL	12 mL

**【注】** 1. 2×Hifair® V C58P2 MP Buffer 为 Hifair® V C58P2 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写,其中包含 dNTPs,dUTP,  $Mg^{2+}$ , stabilizers 等。

2. Hifair® V C58P2 Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair® V Reverse Transcriptase, UNICON® HotStart Taq DNA Polymerase, RNase inhibitor, UDGase。

## 储存条件

-25~-15°C保存，有效期 18 个月。

## 使用说明

### 1. 反应体系（以 30 $\mu$ L 为例）

组分	体积 ( $\mu$ L)	终浓度
2×Hifair® V C58P2 MP Buffer	15	1×
Hifair® V C58P2 Enzyme Mix	1.2	-
Primer/Probe Mix (2.5 $\mu$ M)	3	0.25 $\mu$ M
模板 RNA	1-10	-
RNase Free H <sub>2</sub> O	to 30	-

**【注】** 使用前务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。

1. **引物探针混合液浓度:** 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 μM 范围内进行调整。

2. **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。
3. **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

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C <sup>a</sup>	20 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 55°C均可。

**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 Cyclers; Cepheid SmartCycler®; Illumina Eco qPCR; SLAN 96S, 96P.

## 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。