

## Hifair<sup>®</sup> V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG Plus)

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair <sup>®</sup> V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)	13111ES60	100 T
Hifair <sup>®</sup> V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)	13111ES80	1000 T
Hifair <sup>®</sup> V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)	13111ES92	10000 T

### 产品描述

Hifair<sup>®</sup> V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit 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，本产品含有 UDG 酶，可有效防止气溶胶污染的风险。

本试剂盒利用耐热 Hifair<sup>®</sup> V Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并利用 UNICON<sup>®</sup> 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<sup>2+</sup> 和 dNTP 等，并添加了有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子和提升多重 qPCR 反应扩增效率的因子，能够保证引物扩增效率的同时，进行多达四重的反应。

### 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		
		13111ES60 (100 T)	13111ES80 (1000 T)	13111ES92 (10000 T)
13111-A	2×Hifair <sup>®</sup> V MP Buffer <sup>a,b</sup>	1.2 mL	12 mL	120 mL
13111-B	Hifair <sup>®</sup> V Enzyme Mix (UDG plus) <sup>c</sup>	200 μL	1 mL×2	20 mL
13111-C	RNase Free H <sub>2</sub> O	1.2 mL	12 mL	120 mL

**【注】** a) 2×Hifair<sup>®</sup> V MP Buffer 为 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写。本组分含有 dNTP 和 dUTP。

b) 不含 Rox reference dye。如需，推荐使用货号 10200ES 产品。

c) Hifair<sup>®</sup> V Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair<sup>®</sup> V Reverse Transcriptase、RNase inhibitor、UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase 和 UDG 酶。

### 适用机型

**ABI 系列:** ABI 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne, StepOne Plus; 7500, 7500 Fast, ViiA7, QuantStudio 3 and 5, QuantStudio 6, 7, 12k Flex;

**Bio-Rad 系列:** Bio-Rad CFX96, CFX384, iCycler iQ, iQ5, MyiQ, MiniOpticon, Opticon, Opticon 2, Chromo4;

**Roche 系列:** Roche Applied Science LightCycler 480, LightCycler 2.0; Lightcycler 96;

**其他系列:** Stratagene MX3000P, MX3005P, MX4000P;

**Eppendorf** Mastercycler ep realplex, realplex 2 s;

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

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

### 运输与保存方式

冰袋运输。-20℃保存，有效期 1 年。本品避免反复冻融。建议分装保存。

### 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。

## 反应体系

组分	体积 (μL)	体积 (μL)	终浓度
2×Hifair® V MP Buffer	12	15	1×
Hifair® V Enzyme Mix (UDG plus)	2	2.5	-
Primer/Probe Mix (10 μM)	1-4	1-4	0.4 μM
模板 RNA	1-5	1-10	-
RNase Free H <sub>2</sub> O	To 25	To 30	-

**【注】**: 使用前务必充分混匀, 避免剧烈震荡产生过多气泡。

- 引物浓度**: Primer Mix 中包含多对引物, 通常每条引物终浓度为 0.4 μM, 也可以根据情况在 0.1-1.0 μM 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。
- 反应体系**: 推荐使用 25 μL、30 μL 或 50 μL, 以保证目的基因扩增的有效性和重复性。
- 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。

## 标准扩增程序

	反应阶段	温度	时间	循环数
1	逆转录	50°C <sup>a</sup>	10 min	1
2	预变性	95°C	5 min	1
3	扩增反应	95°C	15 sec	45
		60°C <sup>b</sup>	30 sec <sup>c</sup>	

**【注】**

- 逆转录**: 42°C 或者 50°C 均可, 时间 10-15 min。
- 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。**CDC 官方推荐的 ORF1ab 和 N 引物, 退火温度建议 ≥ 60°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。