

Hifair® III One Step RT-qPCR Probe Kit

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair® III One Step RT-qPCR Probe Kit	11145ES50	50 T
Hifair® III One Step RT-qPCR Probe Kit	11145ES70	200 T

产品描述

Hifair® III One Step RT-qPCR Probe Kit 是以 RNA 为模板进行定量 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。本试剂盒以 RNA 为模板，使用基因特异性引物，利用耐热 Hifair® III Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并搭配使用探针和 UNICON® HotStart Taq DNA Polymerase，配合优化的缓冲体系能够特异灵敏的对 RNA 模板进行精确定量。

本试剂盒以预混的 Mix 形式提供，2×Hifair® III P buffer 包含优化的缓冲体系和 dNTPs 等，优化了有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子和提升 PCR 反应扩增效率的因子，适用于荧光标记探针的高特异性检测系统。此外，Hifair® UH III Enzymes 包含比例优化的 Hifair® III Reverse Transcriptase、RNase inhibitor 及 UNICON® HotStart Taq DNA Polymerase 等。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		11145ES50 (50 T)	11145ES70 (200 T)
11145-A	2×Hifair® III P buffer	500 µL	2×1 mL
11145-B	Hifair® UH III Enzymes	50 µL	200 µL
11145-C	Hieff® 50×High Rox	20 µL	80 µL
11145-D	Hieff® 50×Low Rox	20 µL	80 µL
11145-E	RNase free ddH ₂ O	500 µL	2×1 mL

【注】P buffer 为 Probe buffer 的简写，UH 为 UNICON-Hifair 的简写。

适用机型

High Rox 适用机型：ABI 5700, 7000, 7300, 7700, 7900HT Fast, StepOne™, StepOne Plus™

Low Rox 适用机型：ABI 7500, 7500 Fast, ViiA™7, QuantStudio™ 3 and 5, QuantStudio™ 6,7,12k Flex

Stratagene MX3000P™, MX3005P™, MX4000P™

不需要 Rox 校正的仪器型号：

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

运输和保存方法

冰袋运输。-20℃避光保存，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 (以 20 μ L 为例)

组分	加入量	终浓度
2 \times Hifair [®] III P buffer	10 μ L	1 \times
Hifair [®] UH III Enzymes	1 μ L	-
Hieff [®] 50 \times High Rox or Low Rox	0.4 μ L	-
Gene Specific Primer Forward (10 μ M)	0.4 μ L	0.2 μ M
Gene Specific Primer Reverse (10 μ M)	0.4 μ L	0.2 μ M
TaqMan Probe (10 μ M)	0.2 μ L	0.1 μ M
模板 RNA	Total RNA: 1 pg-1 μ g	-
RNase free ddH ₂ O	to 20 μ L	-

【注】: a 所有试剂使用前应充分混匀。

b 参比染料: Rox 的添加, 可根据不同仪器型号进行选择, 具体可参考【适用机型】。

c 引物浓度: 通常引物终浓度为 0.2 μ M, 也可以根据情况在 0.1-1.0 μ M 之间进行调整。

d 探针浓度: 探针终浓度可在 50 nM-250 nM 之间调整。

e 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。

f 模板稀释: 一步法 RT-qPCR 灵敏度极高, 推荐将模板稀释后(如稀释至 2-5 μ L/样本)加入反应体系中, 这样可以有效提高实验的重复性。

g 反应体系: 建议以大体系进行实验, 如 20 μ L 或 50 μ L。

标准扩增程序

	反应阶段	温度	时间	循环数
1	逆转录	50 $^{\circ}$ C ^a	15 min ^b	1
2	预变性	95 $^{\circ}$ C	30 sec	1
3	扩增反应	95 $^{\circ}$ C 60 $^{\circ}$ C	10 sec 30 sec ^c	45 cycles

【注】: a 对于含复杂二级结构或高 GC 含量的 RNA 模板, 可将逆转录温度提高到 55 $^{\circ}$ C, 有助于提升扩增效率和灵敏度。

b 逆转录时间可以根据模板的复杂程度进行调整, 时间为 5min 时可满足大多数基因的鉴定。

c 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。