

Hifair® V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hifair® V nCov Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit	13110ES50	50 T
	13110ES60	100 T
	13110ES80	1000 T
	13110ES92	10000 T
	13110ES93	10000 T

产品描述

Hifair® 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，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 Mg²⁺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				
		13110ES50 (50 T)	13110ES60 (100 T)	13110ES80 (1000 T)	13110ES92 (10000 T)	13110ES93 (10000 T)
13110-A	2×Hifair® V MP Buffer ^{a,b}	600 μL	1.2 mL	12 mL	120 mL	125 mL
13110-B	Hifair® V Enzyme Mix ^c	50 μL	100 μL	1 mL	10 mL	13 mL
13110-C	RNase Free H ₂ O	600 μL	1.2 mL	12 mL	120 mL	0 mL

【注】： a) 2×Hifair® V MP Buffer 为 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写。

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

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

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	1	1.5	-
Primer/Probe Mix (10 μM)	1-4	1-4	0.4 μmol/L
模板 RNA	1-5	1-10	-
RNase Free H ₂ 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。

- a) **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。
- b) **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。
- c) **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。
- d) **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。
- 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。

标准扩增程序

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

【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_m 值进行调整。CDC 官方推荐的 ORF1ab 和 N 引物，退火温度建议≥60°C。
- 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。