

Hieff Unicon[®] V Universal Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit

产品简介

Hieff Unicon[®] V Universal 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，能够在保证引物扩增效率的同时，进行多达四重的反应。

产品信息

货号	11213ES60 / 11213ES76 / 11213ES80 / 11213ES92
规格	100 T / 500 T / 1000 T / 10000 T

组分信息

组分编号	组分名称	11213ES60 (100 T)	11213ES76 (500 T)	11213ES80 (1000 T)	11213ES92 (10000 T)
11213-A	2×HU [®] MP Buffer	1.25 mL	6.25 mL	12.5 mL	125 mL
11213-B	HU [®] Enzyme Mix	100 μL	500 μL	1 mL	10 mL

【注】1. 2×HU[®] MP Buffer 为 Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写。

2. HU[®] Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair[®] V Reverse Transcriptase 和 UNICON[®] HotStart Taq DNA Polymerase。

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 25 μL 为例）

组分	体积 (μL)	终浓度
2×HU [®] MP Buffer	12.5	1×
HU [®] Enzyme Mix	1	-
Primer Mix (10 μM)	各 1	0.4 μM
Probe Mix (10 μM)	各 0.5	0.2 μM
模板 RNA	1-10	-
RNase Free H ₂ O	to 25	-

【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，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 25-50 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。

2. 参考扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C ^a	10 min	1
预变性	95°C	5 min	1
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。

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。

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。