

# Hieff Unicon<sup>®</sup> V Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Kit (with MgCl<sub>2</sub>)

## 产品简介

Hieff Unicon<sup>®</sup> V Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Kit (with MgCl<sub>2</sub>) 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。独特的 Buffer 和酶的设计, 可用于一步法 RT-qPCR 冻干反应体系的配制和产品设计。

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冻干 Buffer, Enzymes Mix 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, 进行多重荧光定量扩增反应。

本试剂盒酶 mix 中匹配冻干保护剂, 可以直接用于冻干。

## 产品信息

货号	13775ES60 / 13775ES80 / 13775ES92
规格	100 T / 1000 T / 10000 T

## 组分信息

组分编号	组分名称	13775ES60 (100 T)	13775ES80 (1000 T)	13775ES92 (10000 T)
13775-A	4×Hifair <sup>®</sup> V Lyo-Buffer	600 μL	6 mL	60 mL
13775-B	MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	500 μL	5 mL	50 mL
13775-C	10×Hifair <sup>®</sup> V Lyo-Enzyme Mix	240 μL	2.4 mL	24 mL

**【注】** 1. 4×Hifair<sup>®</sup> V Lyo-Buffer 为 Lyo-nCoV Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer 的简写。

2. 10×Hifair<sup>®</sup> V Lyo-Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair<sup>®</sup> V Reverse Transcriptase 和 UNICON<sup>®</sup> HotStart Taq DNA Polymerase。

## 储存条件

-25~-15°C 保存, 有效期 1 年。

## 使用说明

### 1. 反应体系 (以 25 μL 为例)

组分	体积 (μL)	终浓度
4×Hifair <sup>®</sup> V Lyo-Buffer	6	1×
10×Hifair <sup>®</sup> V Lyo-Enzyme Mix	2.4	-
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	3	-
Primer Mix (10 μM)	各 0.4	0.16 μM
Probe Mix (10 μM)	各 0.2	0.08 μM
模板 RNA	1-5	-
RNase Free H2O	to 25	-

**【注】** 使用前务必充分混匀, 避免剧烈震荡产生过多气泡。

1. **引物浓度:** Primer Mix 中包含多对引物, 通常每条引物终浓度可以根据情况在 0.1-1.0 μM 间进行调整。

2. **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。。

3. **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。

4. **反应体系:** 推荐使用 25 - 50  $\mu$ L, 以保证目的基因扩增的有效性和重复性。

5. **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>	10 min	1
预变性	95°C	5 min	1
扩增反应	95°C	15 sec	45
	60°C <sup>b</sup>	30 sec <sup>c</sup>	

【注】a. **逆转录:** 42°C 或者 55°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。

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。