

Hieff Unicon® Fast Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)

快速 RT-qPCR 探针法试剂盒（含 UDG）

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff Unicon® Fast Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)	13660ES60	100 T
快速 RT-qPCR 探针法试剂盒（含 UDG）	13660ES80	1,000 T
	13660ES92	10,000 T

产品描述

Hieff Unicon® Fast Multiplex One Step RT-qPCR Probe Kit (UDG plus)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® 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		
		13660ES60 (100 T)	13660ES80 (1000 T)	13660ES92 (10000 T)
13660-A	4×HU® MP Buffer	600 µL	6 mL	60 mL
13660-B	HU® Enzyme Mix (UDG plus)	200 µL	2×1 mL	20 mL
13660-C	RNase Free H ₂ O	1.2 mL	12 mL	120 mL

【注】

- 4×HU® MP Buffer为Multiplex One Step RT-qPCR Probe Buffer的简写。本组分含有dNTP和dUTP
- HU® Enzyme Mix 主要包含有耐热 Hifair® V Reverse Transcriptase、RNase inhibitor、UNICON® HotStart Taq DNA Polymerase 和 UDG 酶。

运输和保存方法

冰袋运输。-20°C 储存，有效期 1 年。本品避免反复冻融。建议分装保存。

反应体系（以 25 µL 为例）

组分	体积 (µL)	终浓度
4×HU® MP Buffer	6	1×
HU® Enzyme Mix (UDG plus)	2	-
Primer Mix (10 µM)	1	0.4 µM
Probe Mix (10 µM)	0.5	0.2 µM
模板 RNA	1-5	-
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。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。

- 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 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。

适用机型

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

需添加 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

常规扩增程序

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	40-45
	60°C ^b	30 sec ^c	

快速扩增程序

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50°C	2 min	1
预变性	95°C	2 sec	1
扩增反应	95°C	1 sec	42
	60°C ^a	13 sec ^b	

【注】

- a. **扩增反应:** 扩增反应温度根据设计的引物 T_m 值进行调整。
- b. **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。

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。