

One-Step SYBR Green qRT-PCR Kit

一步法 qRT-PCR 检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL642A	一步法 qRT-PCR 检测试剂盒	100T
BL642B	一步法 qRT-PCR 检测试剂盒	500T

产品简介

一步法 qRT-PCR 检测试剂盒以 RNA 为模板, 通过 PCR 技术, 在 DNA 聚合酶配合优化的 Buffer 作用下, 利用基因特异性引物, 于同一反应体系中一步完成反转录和 qRT-PCR 反应, 无需额外开管和移液操作, 操作简便快捷, 提高检测通量, 最大限度地减少人为误差和人工操作时间, 并减少污染风险。

本试剂盒中的 2×One-Step qRT-PCR Buffer 包含必要的离子组分、dNTPs、加样染料等, One Step RT-PCR Enzyme Mix 包含比例优化的逆转录酶、RNA 酶抑制剂以及 DNA 聚合酶。用户只需自备引物和模板 RNA 即可。反应体系完成后可直接进行电泳检测。本试剂盒具有线性范围广, 特异性和灵敏度高等特点, 对目的基因定量数据更准确。

ROX Reference Dye 用以校正定量 PCR 仪孔与孔之间产生的荧光信号误差, 不同的荧光定量 PCR 仪对 ROX 的要求不同, 根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用所需 ROX 类型。

产品组成

组分	BL642A (100T)	BL642B (500T)
One-Step qRT-PCR Enzyme Mix	200 µl	1 ml
2 × One-Step qRT-PCR Buffer	1 ml	5 × 1 ml
RNase-Free Water	1 ml	3 × 1.5 ml
ROX Reference Dye	40 µl	200 µl
ROX Reference Dye II	40 µl	200 µl

*注: 不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:

需加 ROX Reference Dye (50×) 的机型: ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。

需加 ROX Reference Dye II (50×) 的机型: ABI Prism7500/7500 Fast, MJ Research Chromo4, Opticon (II), Corbett Rotor Gene 3000。

无需加 ROX Reference Dye 的机型: Thermal Cycler Dice Real Time System, LightCycler, Smart Cycler System, Corbett Rotor-gene 6000, Agilent Technologies Mx3000P 等荧光定量 PCR 仪。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



使用方法

1. 按照下表配制反应体系

组分	体积
RNA 模板*	1-2 μ l
上游引物 GSP (10 μ M) **	0.4 μ l
下游引物 GSP (10 μ M) **	0.4 μ l
2 \times One Step qRT-PCR Buffer	10 μ l
One Step qRT-PCR Enzyme Mix	2.0 μ l
ROX Reference Dye/ROX Reference Dye II***	0.4 μ l
RNase-Free Water	补至 20 μ l

*: 以 HeLa 细胞 Total RNA 模板为例, 20 μ l 反应体系中加入 Total RNA 的量为 10 pg-100 ng 为宜。建议将 RNA 样品稀释 5-10 倍后, 取 2 μ l 加入 PCR 反应体系, 以确保更小的移液误差。

** : 引物的终浓度可在 0.1 μ M-1 μ M 之间调整。

*** : 请根据 real-time PCR 机器的型号, 选择对应的 ROX Reference Dye。

2. 反应设置

两步法流程	温度	时间	循环数
反转录*	50°C	5-15 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	15 sec	35-45
退火-延伸	60°C	15-30 sec	
熔解曲线	根据仪器推荐程序设置		

三步法流程**	温度	时间	循环数
反转录*	50°C	5-15 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	15 sec	35-45
退火	60°C	15 sec	
延伸	72°C	30 sec	
熔解曲线	根据仪器推荐程序设置		

*: 通常 PCR 产物长度在 80-200 bp, 此时采用 5 min 的反转录时间即可。

** : 当两步法扩增效率不好的时候建议选择三步法进行 qPCR 反应。

注意事项

1. 实验所用的离心管、吸头等耗材均需保证 RNase-free; 实验过程中请保持实验区域洁净, 注意避免 RNase 污染; RNA 样品要避免基因组 DNA 污染。

2. 请利用适宜的 RNA 提取方法, 以确保 RNA 模板的完整性, 获得高质量 RNA 模板。

3. 除酶以外的试剂请在使用前完全溶解并充分混匀。

4. 如果扩增片段较长或 RNA 结构复杂, 可将 RNA 单独置于 65°C 加热 5-10 min 后再加入体系, 可提高

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



反转录效率。

5.本试剂盒只能使用特异性反转录引物，不能使用 Random Hexamer Primer 或 Oligo(dT) Primer 等常用于 cDNA 第一链合成的引物。

6.实验全程应在冰浴条件下进行。当同时进行多次 qRT-PCR 反应时，先将所需试剂配制成混合液后再分装到 PCR 管内，以减少实验操作或误差。

7.吸取 Enzyme Mix 前用移液器轻轻混匀，混匀过程中避免产生气泡，并短暂离心收集至管底，吸取时应缓慢吸取。-20℃保存，使用后立即放回冰箱。

8.本试剂盒中含有 SYBR Green I 荧光染料，保存本产品或设置 PCR 反应时应避免强光照射，以尽量避免荧光淬灭问题。

9.本试剂盒仅限于专业人员的科研使用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品、药品或化妆品，不得存放于普通住宅内。

10.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套和口罩操作。

保存条件

-20℃保存，保质期 2 年。

