

## One-Step SYBR Green qRT-PCR Kit (with UNG)

### 一步法 qRT-PCR 检测试剂盒（含 UNG 酶）

| 产品编号   | 产品名称                       | 规格   |
|--------|----------------------------|------|
| BL643A | 一步法 qRT-PCR 检测试剂盒(含 UNG 酶) | 100T |
| BL643B | 一步法 qRT-PCR 检测试剂盒(含 UNG 酶) | 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荧光定量 PCR 的反应，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、上样染料等，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。本产品具有线性范围广，特异性和灵敏度高等特点，对目的基因定量数据更准确。

本试剂盒添加了优化比例的 dUTP，在 Taq 酶的扩增过程中可以掺入到合成的 PCR 产物中。使用 dUTP 体系的实验，在 PCR 程序开始之前先用 UNG 酶（已经预加在试剂盒中）处理反应体系，UNG 酶可以特异性识别含有 dUTP 的 PCR 产物并酶切降解，可以有效防止 PCR 产物的气溶胶污染。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<br>(100T) | BL642B<br>(500T) |
|------------------------------------|------------------|------------------|
| One-Step qRT-PCR Enzyme Mix (UNG)  | 200 µl           | 1 ml             |
| 2 × One-Step qRT-PCR Buffer (dUTP) | 1 ml             | 5 x 1 ml         |
| RNase-Free Water                   | 1 ml             | 3 x 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。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com



## 使用方法

### 1. 按照下表配制反应体系

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

\*: 以 HeLa 细胞 Total RNA 模板为例, 20  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ M-1  $\mu$ 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℃        | 5-15 min  | 1     |
| 预变性   | 94℃        | 2 min     | 1     |
| 变性    | 94℃        | 15 sec    | 30-40 |
| 退火-延伸 | 60℃        | 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℃        | 5-15 min | 1     |
| 预变性     | 94℃        | 2 min    | 1     |
| 变性      | 94℃        | 15 sec   | 30-40 |
| 退火      | 60℃        | 15 sec   |       |
| 延伸      | 72℃        | 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。

