

SuperRT III One-Step qRT-PCR SYBR Kit(UNG)

SuperRT III 一步法 qRT-PCR 试剂盒-染料法(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1024A	SuperRT III 一步法 qRT-PCR 试剂盒-染料法(UNG)	100 rxn
BL1024B	SuperRT III 一步法 qRT-PCR 试剂盒-染料法(UNG)	1000 rxn

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。

本产品是基于 SuperRT III 反转录酶、抗体型热启动 Taq DNA 聚合酶、配合优化的 Buffer 体系,采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行一步法实时荧光定量检测的专用试剂盒。对于二级结构复杂和 GC 含量高的 RNA 模板扩增效果好,非常适用于 RNA 病毒等微量目标基因的检测。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。

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。

产品组分:

组分名称	BL1024A	BL1024B
SuperRT III One-Step SYBR Enzyme Mix(UNG)	100 µl	1 ml
2×One-Step SYBR SuperRT III Buffer(dUTP)	1 ml	5 ml×2
Nuclease-free Water	1 ml	5 ml×2
High ROX Reference Dye	40 µl	400 µl
Low ROX Reference Dye	40 µl	400 µl

* 注:不同仪器所需 ROX Reference Dye 不同:需加 High ROX Reference Dye 的机型:ABI Prism7000/7300/7700/7900HT 和 ABI Step One /ABI Step One Plus。需加 Low ROX Reference Dye 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。

操作步骤:

1. 按照下表配制反应体系:

组分	体积
RNA 模板*	1-2 µl
上游引物 GSP (10 µM) **	0.4 µl
下游引物 GSP (10 µM) **	0.4 µl
2×One-Step SYBR SuperRT III Buffer(dUTP)	10 µl

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。



SuperRT III One-Step SYBR Enzyme Mix(UNG) 1 μ l
 High/Low ROX Reference Dye*** 0.4 μ l
 Nuclease-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. 反应程序设置:

两步法流程	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	37°C	5min	1
反转录***	50°C	10 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	15 s	35-45
退火-延伸*	60°C	45-60 s	
三步法流程**	温度	时间	循环数
UNG 酶处理	37°C	5min	1
反转录***	50°C	10 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	15 s	35-45
退火	55-65°C	15 s	
延伸	72°C	30 s	

* 当使用 ABI 仪器时, 建议退火-延伸时间设置为 60 sec。

** 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。

*** 复杂模板逆转录温度可升高至 55-60°C, 提高反转录效率。反应时间可根据实验应用场景做适当调整。

3. 在适当的 qPCR 仪器上完成实验, 并分析结果。

注意事项:

1. 实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase-free。
2. 各个组分在使用之前请完全溶解并充分混匀, 以防因盐离子浓度不均影响实验结果。
3. 如果扩增片段较长或者 RNA 结构复杂, 可以将 RNA 单独置于 65°C 加热 5-10 min 后再加入体系。
4. 制品只能使用特异性反转录引物, 不能使用 Random Primer 和 Oligo18 (dT)等进行反转录反应。
5. 使用 SuperRT III One-Step SYBR Enzyme Mix 时, 应轻轻混匀, 避免起泡; 分取之前要小心地离心收集到反应管底部; 由于酶保存液中含有 50%的甘油, 粘度高, 分取时应慢慢吸取。-20°C 保存, 使用后立即放回冰箱。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C避光保存, 保质期 12 个月。

