2×One Step RT-qPCR Probe Mix
一步法 RT-qPCR 试剂盒（一管式）

目录号

DZQ201

产品简介

本产品采用一步法 RT-qPCR 技术，可在单一反应管内依次完成逆转录与荧光定量 PCR 检测，操作简便，减少加样步骤与污染风险。预混液中已优化配置 Mg^{2+}、dNTP、核心酶体系及多种功能性因子，既可有效抑制非特异性扩增，又能提升多重 qPCR 的反应效率，保障各靶标基因扩增的均一性与检测灵敏度，适用于四重及以内的多重检测体系。

产品组成

组分	规格（400 rxns）
2×One Step RT-qPCR Probe Mix	4.0 mL
50×ROX Reference Dye Ⅱ(Low)	200 μL
RNase-free Water	1.0 mL×4

注：One Step RT-qPCR Probe Mix 含有 dNTP、Mg^{2+}、HiScript Reverse Transcriptase、RNase inhibitor 以及 Taq DNA Polymerase 等组分。

产品应用

- 本产品适用于基因表达水平分析、病原体核酸检测及 RNA 病毒定量分析。

产品特点

- 一管式操作，简化流程；
- 高效反转录与灵敏扩增。

使用方法

1. 取适量的 RNA 模板按照下表制备反应体系。

注意：用于后续 RT-qPCR 检测时，模板量占 qPCR 体系的 10%—30%。如 20 μL 的 RT-qPCR 体系中，加入 2-6 μL 模板即可，但不能超过 6 μL。

2. 无核酸酶的微量离心管中按照下表配置 RT-qPCR 反应体系：

qPCR 组分	用 量	终浓度
2×One Step RT-qPCR Probe Mix	10 μL	1×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
Probe (10 μM)	0.4 μL	0.2 μM
RNA 模板	2 μL	10%—30%
50×ROX Reference Dye*	0.4 μL	1×
RNase-Free ddH_2O	Up to 20 μL	

*：根据定量 PCR 仪器不同选择合适的 ROX Reference Dye 终浓度。常见定量 PCR 仪的最适 ROX Reference Dye 浓度见下表：

荧光定量 PCR 仪	ROX Reference Dye 终浓度
ABI PRISM7000/7300/7700/ 7900HT/Step One 等	5×（如 20 μL 体系，加入 2 μL 50× ROX Reference Dye）
ABI 7500/7500 Fast 和 Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000 等	1×（如 20 μL 体系，加入 0.4 μL 50× ROX Reference Dye）

3. 根据优化好的 RT-qPCR 条件（退火温度等）进行 RT-qPCR 反应（反应条件见步骤 4）。

注意：尽量使用优化后的条件进行 RT-qPCR 反应，可以得到更好的结果。

4. 两步法 qPCR 按以下程序进行反应：

阶段	温 度	时 间	循环数
逆转录	50°C	15min	1
预变性	95°C	1min	1
变性	95°C	10 sec	40
退火/延伸	60°C	30 sec	

注意事项

- 注意实验的操作手法，避免样本间的交叉污染。
- 注意实验环境及用具清洁，避免 RNase 污染，造成 RNA 降解。
- 2×One Step RT-qPCR Probe Mix 应避免反复冻融，否则会影响 PCR 效率。

保存条件

试剂盒-25℃~ -15℃保存，保质期 1 年，≤0℃运输。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：product@tsingke.com.cn。

说明书版本号

1.1.1.ZQ201.2604

