



HP One Step qRT-PCR SYBR Kit QP401

产品概述

Product Overview

本产品采用 SYBR Green I 嵌合荧光法，将反转录与定量 PCR 步骤整合于同一反应管内，不仅简化操作流程，更显著降低了交叉污染的风险。产品将高性能 M-MLV 反转录酶与热启动 Taq DNA 聚合酶优化组合，配合精心优化的反应体系，确保 cDNA 合成与 qPCR 扩增均具备高灵敏度、高扩增效率与优异特异性。

2 × One Step qRT-PCR SYBR Buffer 特别添加的增强因子可有效抑制引物二聚体形成，进一步提升检测准确性。本产品适用于动物、植物、微生物（包括 RNA 病毒）等多种来源的 RNA 模板，可在 pg 级微量 RNA 样本中稳定检出目的基因。可广泛应用于病原体检测、基因表达分析、转录组研究及其他相关分子生物学领域。

产品组成

Product Composition

组 分	QP401S 25rxns/20μL	QP401 250rxns/20μL
2 × One Step qRT-PCR SYBR Buffer	250 μL	3×840 μL
One-Step qRT-PCR Enzyme Mix	25 μL	250 μL
RNase-free H ₂ O	1 mL	2 × 1.25 mL

注意事项

Precautions

- 使用前请轻柔颠倒混匀数次，并短暂离心后使用。若解冻后出现少量白色沉淀，请于室温静置片刻后轻柔颠倒混匀，待沉淀溶解后使用；
- One-Step qRT-PCR Enzyme Mix 甘油浓度较高，使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，并用移液枪轻柔吸打混匀，再进行使用；
- 本试剂盒只适用于以基因特异引物扩增目的基因，不能使用 Oligo(dT)或 Random Primer 合成 cDNA；
- 避免反复冻融和强光直射，并在冰上配置反应体系，以免造成酶活下降；
- 反应液的配制、分装请使用 RNase-free 枪头和离心管，尽量避免样品间污染；
- 加样过程中吹打要轻，防止产生过多气泡影响荧光信号采集；
- 为保证反应成功,请使用高质量的 RNA 模板。
- 本产品中未配有 ROX Reference Dye，如果反应中需要添加 ROX Reference Dye 用以校正孔间荧光信号值误差，可配合本公司 ROX Reference Dye (20μM)使用。

操作流程

Operation Process

◆ 制备 PCR 预混液

组 分	使用量
2 × One Step qRT-PCR SYBR Buffer	10 μL
One-Step qRT-PCR Enzyme Mix	1 μL
Gene Specific Primer Forward (10 μM)	0.4 μL ^{*1}
Gene Specific Primer Reverse (10 μM)	0.4 μL ^{*1}
Template RNA	1 pg - 100 ng ^{*2}
RNase free H ₂ O	Up to 20 μL

*1 当引物终浓度为 0.2 μM 反应性能较差时，可在 0.1~1.0 μM 范围内调整；

*2 由于模板溶液中靶基因的拷贝数不同，可以进行梯度稀释寻找适当的模板添加量。

◆ 反应程序

步 骤	时 间	循环数
50°C	5 min	1
95°C	30 sec ^{*1}	1
95°C	5 sec	} 40 – 45 Cycles
60°C ^{*2}	10 -30 sec ^{*3}	
熔解曲线	仪器默认设置 ^{*4}	

*1: 大部分模板可使用该条件进行变性，模板复杂时可将预变性时间延长至 1-2 min；

*2: 荧光信号采集。

*3: 标准程序选择 30 sec；快速程序：对于 200 bp 以内的扩增子最短可设为 10 sec；超过 200 bp 的扩增子，推荐延伸时间为 30 sec。

*4: 仪器类型不同，熔解曲线采集程序不尽相同，使用仪器默认熔解曲线采集程序即可。

保存条件

Storage conditions

保存条件：-30 ~ -15°C 保存，干冰/-20°C 运输。保质期限：18个月。