



# 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<br>25rxns/20μL | QP401<br>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 <sub>2</sub> 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 <sup>*1</sup>        |
| Gene Specific Primer Reverse (10 μM) | 0.4 μL <sup>*1</sup>        |
| Template RNA                         | 1 pg - 100 ng <sup>*2</sup> |
| RNase free H <sub>2</sub> 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 <sup>*1</sup>     | 1              |
| 95°C               | 5 sec                    | 40 – 45 Cycles |
| 60°C <sup>*2</sup> | 10 -30 sec <sup>*3</sup> |                |
| 熔解曲线               | 仪器默认设置 <sup>*4</sup>     |                |

\*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。