一步法RT-qPCR试剂盒（BW-RT0214）

本制品是采用SYBR Green嵌合荧光法进行qRT-PCR 的专用试剂。采用HotStart Taq DNA聚合酶并结合特别配方的反应缓冲 液，能有效抑制非特异性反应，提高了反应特异性，能够在更广的范围内进行准确定量。以动物、植物和微生物的总RNA或mRNA 为模板，将cDNA合成和PCR反应集中在一个管中进行，反转录结束后可直接进行PCR循环而不用增加额外的步骤。本制品配有 不同浓度的ROX Reference Dye ，用于不同仪器校正孔间荧光信号误差。

**试剂盒组成**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Catalog# | **BW-RT0214-01** | **BW-RT0214-02** |
| 2×NovoScript® SYBR One-Step qRT-PCRSuperMix | 1ml | 1ml×5 |
| NovoScript® RT Enzyme Mix | 100μl | 500μl |
| RNase Free Water | 1ml | 1ml×5 |
| ROX Reference Dye I（ROX I） | 200μl | 1ml |
| ROX Reference Dye II（ROX II） | 200μl | 1ml |

**产品贮存及稳定性**

保存：原则上**-20℃**遮光保存。如果持续使用，可在 4℃内进行短期遮光保存。

使用：请上下颠倒轻轻均匀混合，避免起泡，并经轻微离心后使用。反应液的配制、分装请使用新的（无污染的）枪头、 Microtube 等，避免污染。建议反应体积为 20～50 μl。

**适用仪器**

1. **用ROX I 校准的 Real Time PCR仪有：**

ABI : 5700/7000/7300/7700/7900/7900 HT/7900 HT Fast/StepOne/StepOnePlus及其他仪器。

1. **用ROX II 校准的 Real Time PCR仪有：**

ABI : 7500 / 7500 Fast / ViiA7 / QuantStudio 3 , 5 , 6 Flex , 7 Flex12k Flex ;

Stratagene : MX4000/MX3500P/MX3000P及其他仪器。

1. **不需要用 ROX 校准的 Real Time PCR仪有：**

Bio-Rad : CFX96/CFX 384/iCycler iQ/ iQ5/MyiQ/MiniOpticon/Opticon/Opticon2/Chromo4；

Eppendorf : MasterCycler ep realplex/realplex 2s；

Cepheid : SmartCycler；

 Illumina : Eco qPCR；

Roche Applied Science : LightCycler480/LightCycler2.0/Lightcycler96；

Thermo Scientific : PikoReal Cycler；

Qiagen : Corbett Rotor-Gene Q/Rotor-Gene 3000/ Rotor-Gene 6000及其他仪器。

**操作说明**

1. 常用反应体系（50μl）：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 2×NovoScript® SYBR One-Step qRT-PCR SuperMix | 10μl |  |
| NovoScript® RT Enzyme Mix | 1μl |  |
| 上游引物 | 0.2～1.0μM | （终浓度） |
| 下游引物 | 0.2～1.0μM | （终浓度） |
| RNA 模板 | 1～2μl |  |
| RNase Free Water | 至 20μl |  |

1. 常用PCR反应程序：

2.1 两步法

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 反应阶段 | 循环数 | 温度 | 时间 |
| 反转录 | 1 |  42℃ |  5min |
| 预变性 | 1 | **94℃** | **5min** |
| 变性 | 40 | **95℃** | **15s** |
| 退火/延伸 | **60℃** | **1min** |
| 终延伸 | 1 | **72℃** | **5min** |
| 溶解曲线 | 1 | **60-95℃** | **---** |

2.2 三步法

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 反应阶段 | 循环数 | 温度 | 时间 |
| 反转录 | 1 |  42℃ |  5min |
| 预变性 | 1 | **94℃** | **5min** |
| 变性 | 40 | **95℃** | **15s** |
| 退火 | **50-60℃** | **20s** |
| 延伸 | **72℃** | **30s** |
| 终延伸 | 1 | **72℃** | **5min** |
| 溶解曲线 | 1 | **60-95℃** | **---** |

**购买须知**

根据说明书使用时，本产品保证性能符合产品标示和倍沃文献中的描述。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性等。倍沃对违反本保证的唯一义务和购买者的唯一补救措施是由倍沃选择更换产品。倍沃对因使用产品、使用产品结果或无法使用产品而引起的任何直接、间接、后果性或附带损害不承担任何责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 **400-115-2855** 与我们联系。

[登录官方网站获取产品手册等更多信息：http://www.beiwobiomedical.com/](http://www.biomiga.com.cn/)

[](http://www.biomiga.com.cn/)