

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

SuperRT III 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)

产品编号	产品名称	规格
BL1026A	SuperRT III 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)	100 rxn
BL1026B	SuperRT III 一步法反转录-荧光定量 PCR 试剂盒-探针法(UNG)	1000 rxn

产品简介:

本产品是基于高效 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, 采用探针法进行一步法反转录实时荧光定量检测的专用试剂盒。使用本产品进行 Real Time RT-PCR 反应时, 以提取的 RNA 为模板, 在同一反应管内连续进行反转录和荧光定量检测, 操作简单, 并能有效防止污染、降低加样误差。对于二级结构复杂和 GC 含量高的 RNA 模板扩增效果好, 非常适合于 RNA 病毒等微量目标基因的检测。相对于 SYBR 法, 探针法荧光定量的发光原理有所区别, 在目标样本低丰度的情况下有着更加稳定、准确的检测效果。

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。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。

产品组分:

组分名称	BL1026A	BL1026B
SuperRT III One-Step Probe Enzyme Mix(UNG)	100 μ l	1 ml
2 \times One-Step Probe SuperRT III Buffer(dUTP)	1 ml	5 ml \times 2
Nuclease-free Water	1 ml	5 ml \times 2
High ROX Reference Dye	40 μ l	400 μ l
Low ROX Reference Dye	40 μ l	400 μ l

* 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
2 \times One-Step Probe SuperRT III Buffer(dUTP)	10 μ l
上游引物 GSP (10 μ M)	0.8 μ l
下游引物 GSP (10 μ M)	0.8 μ l
探针 (10 μ M)	0.4 μ l
RNA 模板*	x μ l

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 Probe 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。

** 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 Probe 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。

