

## One-Step RT-qPCR Kit



成为世界一流的特种酶产品与服务提供商  
info@hzymes.com  
www.hzymes.com

说明书版本号: V1.0

### 产品信息

产品名称	货号	规格
One-Step RT-qPCR Kit	HMD4001-01	100 rxn
	HMD4001-02	1000 rxn
	HMD4001-03	10000 rxn

### 产品概述

One-Step RT-qPCR Kit 是以 RNA 为模板的一种多重荧光定量 PCR 试剂盒。在反应过程中，逆转录和定量 PCR 在一管内完成，无需额外的开管操作，降低了污染的风险。One-Step RT-qPCR Kit 选用逆转录酶可高效合成第一条链 cDNA，并且选用最佳比例的 Hot Start Taq DNA 聚合酶（抗体修饰）和 RNase 抑制剂，配合添加抑制非特异性扩增及提升多重定量扩增效率的增强剂缓冲液体系，检测灵敏度可达 0.1 pg，能够提供稳定可靠的扩增，可进行多达四重的反应。

### 产品组分

组分	2×One-Step Buffer	Enzyme Mix
HMD4001-01	1 mL	0.15 mL
HMD4001-02	10 mL	1.5 mL
HMD4001-03	10×10 mL	10×1.5 mL

注：

- 2×One-Step Buffer 包含 dNTP Mix、Mg<sup>2+</sup>。
- Enzyme Mix 主要包含反转录酶、Hot Start Taq DNA 聚合酶（抗体修饰）以及 RNase 抑制剂。
- ROX: 需根据检测仪器机型自行选择校正。

### 运输与保存方法

≤0°C运输；-25~-15°C保存。

### 注意事项

在实验配制过程中请使用 RNase free 枪头、EP 管等。

### 反应体系

组分	体积	终浓度
2×One-Step Buffer	10 μL	1×
Enzyme Mix	1.5 μL	-
Primer Mix	x	0.1 -1 μM
TaqMan Probe Mix	y	50-300 nM
模板 RNA	Total RNA 1 pg-1 ug	-
RNase Free H <sub>2</sub> O	to 20 μL	-

注：

- 引物浓度通常为 0.2 μM，当扩增性能较差时，可根据情况在 0.1-1.0 μM 范围内进行引物浓度调整。
- 可以使用含有多个荧光信号的探针，每种不同信号的探针终浓度可在 50-300 nM 之间调整。
- qPCR 灵敏度极高，推荐将模板进行稀释后

加入反应体系中，控制 Ct 值范围在 20-35 之间适宜。

- 反应体系推荐使用 20 μl 或 50 μl。
- 扩增产物长度选择在 80 -250 bp 范围内。
- 使用前请充分溶解后吸取，避免剧烈震荡产生过多气泡。

### 扩增程序

步骤	温度	时间
反转录	50°C	10 min
预变性	95°C	5 min
循环 40×	95°C	10 s
	50-68°C	30 s

注：

- 对于具有复杂二级结构或高 GC 含量的模板，建议将逆转录温度提升至 55°C，有利于提高扩增效率。
- 扩增反应温度可根据引物和探针平均 Tm 值约低 5°C 进行调整。
- 若 RT-PCR 产物 ≥1kb，循环步骤可以增加一步 68°C 延伸，时间根据扩增片段大小，一般按 1 kb/min 进行计算。