



# S6 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen) 使用说明书

产品名称	单位	货号
S6 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	100T	S6049-s-01
S6 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	500T	S6049-s-05
S6 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	1000T	S6049-s-10

## 【储存条件】

长期保存, 请置于-20°C, 有效期 24 个月。

## 【产品简介】

赛音图 S6 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen) 是采用染料法进行一步法实时荧光定量检测的专用试剂盒。本产品是基于高效的 S6Script II 反转录酶、抗体型 Hotstart Taq DNA 聚合酶配合优化的 Buffer 体系研制, 在提高检测灵敏度的同时保证了扩增的特异性。使用本制品进行 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。本产品为 2x 预混增强荧光定量 PCR 反应体系, 使用时只需加入模板、引物、ROX Reference Dye (用以校正孔与孔之间产生的荧光信号误差, 根据不同荧光定量 PCR 仪选择使用) 和水, 使其工作浓度为 1×, 即可进行反应。具有快速简便、灵敏特异、稳定性好。

## 【产品组份】

	S6049-s-01	S6049-s-05	S6049-s-10
S6 One Step Enzyme Mix	220 μl	5x220 μl	2.2ml
2x S6 One Step qRT-PCR Buffer (Sybrgreen)	1.1 ml	5x1.1 ml	3x3.67ml
DEPC-ddH2O	1.1ml	5x1.1 ml	3x3.67ml

## 【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免RNase污染。
2. 除酶以外的各种试剂, 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. RNA模板的完整性对cDNA合成效率起着决定性作用, 因此请选择可靠的RNA提取/纯化方法。建议使用S6 Trigenet 总RNA提取试剂制备高质量的RNA模板。
4. 如果扩增片段较长或者RNA结构复杂, 为了加强转录效果, 可以将RNA单独置于65-70度加热5-10 min后再加入体系。
5. 制品能使用特异性反转录引物, 也能使用Random Primer和Oligo dT Primer等进行反转录反应。
6. 当同时需要进行数次Real Time One Step qRT-PCR反应时, 应先配制各种试剂的混合液, 然后再分装到每个反应管中。这样, 可使所取的试剂体积更准确, 减少试剂损失, 避免重复分取同一试剂。同时也可以减少实验操作或实验样品之间产生的误差。
7. 使用S6 One Step 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, 使用后应立即放回冰箱。

## 【操作示例】

### 按下表配制 qRT-PCR 反应体系:

2× S6 One-Step qRT-PCR Buffer (Sybrgreen)	10 μl
Primer 1 (10μM)	0.4 μl
Primer 2 (10μM)	0.4 μl
Template RNA	1-2μl
S6 One Step Enzyme Mix	2 μl
ddH <sub>2</sub> O 补足至	20 μl

### 建议的 qRT-PCR 条件:

42°C	15-30 min.
两步法:	
94°C 预变性	2 min.
94°C 变性	15 sec.
60°C 退火-延伸	15-30 sec.
35-45 cycles	

### 建议的 qRT-PCR 条件:

42°C	15-30 min.
三步法:	
94°C 预变性	2 min.
94°C 变性	15 sec.
60°C 退火	15 sec.
72°C 延伸	30 sec.
35-45 cycles	

当两步法扩增不好时建议选择三步法。

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。