

M5 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	100T	MF049-s-01
M5 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	500T	MF049-s-05
M5 One-Step qRT-PCR Kit (Sybrgreen)	1000T	MF049-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】

聚合美 M5 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 M5Script 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】

	MF049-s-01	MF049-s-05	MF049-s-10
M5 One Step Enzyme Mix	100 μ l	0.5ml	1ml
2x M5 One Step qRT-PCR Buffer (Sybrgreen)	1ml	5ml	2x5ml
DEPC-ddH ₂ O	1ml	5ml	2x5ml
ROX Reference Dye	40 μ l	200 μ l	400 μ l
ROX Reference Dye II	40 μ l	200 μ l	400 μ l

【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 M5 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 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 M5 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，使用后立即放回冰箱。

【操作示例】

按下表配制 qRT-PCR 反应体系:

2× M5 One-Step qRT-PCR Buffer (Sybrgreen)	10 μ l
Primer 1 (10 μ M)	0.4 μ l
Primer 2 (10 μ M)	0.4 μ l
Template RNA	1-2 μ l
M5 One Step Enzyme Mix	1 μ l
ddH ₂ O 补足至	20 μ l

建议的 qRT-PCR 条件:

50°C	5-15min.
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	

当两步法扩增不好时建议选择三步法。

建议的 qRT-PCR 条件:

50°C	5-15 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	

**【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。