



2×GUEasy One Step RT-qPCR Probe Kit

产品信息

产品名称	目录号	规格
2×GUEasy One Step RT-qPCR Probe Kit	RTM3003-1	1 mL
2×GUEasy One Step RT-qPCR Probe Kit	RTM3003-3	1 mL×3
2×GUEasy One Step RT-qPCR Probe Kit	RTM3003-5	1 mL×5

产品介绍

本试剂盒利用基因改造的 MMLV Reverse Transcriptase 高效合成第一链 cDNA，并利用抗体封闭的 Taq DNA Polymerase 进行定量扩增。本试剂盒主要包含优化的 2×GUEasy RT-qPCR NM buffer mix，GUEasy RT Enzyme mix 以及 RNase Free ddH₂O，按照反应体系进行添加。缓冲液中已含有 Mg²⁺和 dNTP 等，并添加了有效抑制非特异性 PCR 扩增的因子和提升多重 qPCR 反应扩增效率的因子，保证扩增效率的同时，可同时进行多重反应。

产品优势

快速：一步法快速、准确地对动物、植物以及微生物等 RNA 进行检测或定量。

灵敏：能有效检测低拷贝数模板量。

重复性：优化的反应体系，保证实验间的高度重复性。

反应体系

组分	体积 (ul)	终浓度
2×GUEasy RT-qPCR NM buffer mix	10	1×
GUEasy RT Enzyme mix	1	-
Probe Mix (10uM)	N	0.2uM
Primer Mix (10uM)	N	0.4uM
Template	1-5ul	-
RNase Free ddH ₂ O	up to 20ul	-

参考程序

循环步骤	温度	时间	循环数
逆转录	50℃	10min	1
预变性	95℃	2-5min	1
扩增反应	95℃	5-15s	45
	60℃	30s	

保存条件

冰袋运输。-20℃保存，有效期 1 年



注意事项

1. 使用前务必充分混匀，避免剧烈震荡产生过多气泡。
2. 引物浓度 Primer Mix 中包含多对引物，通常每条引物终浓度为 $0.25\mu\text{M}$ ，也可以根据情况在 $0.1-1.0\mu\text{M}$ 间进行调整；
3. 探针浓度：Probe Mix 中包含多条不同荧光信号的探针，每条探针的浓度可根据具体情况在 $50-300\text{ nM}$ 间调整；
4. 模板稀释：qPCR 灵敏度极高，建议将模板进行稀释使用，控制 Ct 值在 20-35 之间适宜；
5. 反应体系：推荐使用 $20\mu\text{L}$ 或 $50\mu\text{L}$ ，以保证目的基因扩增的有效性和重复性。
6. 体系配制：请于超净工作台内配制，并使用无核酸酶残留的枪头、反应管；推荐使用带滤芯的枪头。避免交叉污染和气溶胶污染。
7. 退火/延伸：温度和时间可根据设计的引物 T_m 值适当调整。

实验案例

Chicken liver 总 RNA 进行四重 RT-qPCR (FAM — ; HEX — ; ROX — ; Cy5 —)

