

### 【产品概述】

GeniuScript™ One Step HS RT-qPCR SYBR Kit 是一款基于 SYBR Green I 荧光染料, 直接以 RNA 为模板进行荧光定量 PCR 扩增的高灵敏检测试剂盒。产品整合了博岳生物 GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase、HotStart Taq DNA Polymerase、RNase Inhibitor 以及精心优化的缓冲体系, 允许在同一反应管中先后进行高效的 RNA 逆转录反应和荧光定量 PCR 扩增。试剂盒操作简便快捷, 可以最大限度地减少人为误差并有效降低污染风险, 非常适合快速基因表达分析, 以及内源低丰度 RNA、外源病毒 RNA 等微量 RNA 的高灵敏度检测。

### 【产品组分】

组分		M5RQ05 (100 rxns)
10× One Step Enzymes Mix <sup>a</sup>		200 μL
2× One Step RT-qPCR Buffer <sup>b</sup>		1 mL
50× Low ROX <sup>c</sup>		40 μL
50× High ROX <sup>c</sup>		40 μL
RNase-free ddH <sub>2</sub> O		1 mL

a. 含 GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase、RNase inhibitor、HotStart Taq DNA Polymerase。

b. 含 dNTP Mix、SYBR Green I。

c. 可用于校正孔与孔之间的荧光信号误差。

### 【储存和运输】

干冰或冰上运输, -20℃避光保存; 若多次使用, 建议分装保存, 避免反复冻融。

### 【注意事项】

- 10× One Step Enzymes Mix 粘度较高, 使用前请短暂离心, 吹打混匀后准确吸取。
- 确保 2× One Step RT-qPCR Buffer 完全融化, 并充分混匀后使用。
- 产品含 SYBR Green I 荧光染料, 保存时应避免强光照射, 以尽量避免荧光淬灭问题。
- 请于超净工作台等洁净环境进行操作, 并使用 RNase-free 的移液枪头、反应管等耗材; 推荐使用带滤芯的枪头, 尽量避免交叉污染和气溶胶污染。



## 【适用机型】

ROX	适用机型
无需添加	Bio-Rad: CFX384、CFX96、MiniOpticon、iCycler IQ、MyiQ and iQ5; Eppendorf: Mastercycler ep realplex and realplex2 s; Qiagen/Corbett Rotor-Gene: 6000; Roche LightCycler 480; Cepheid SmartCycler; Illumina Eco qPCR 等
Low ROX	ABI: 7500 Fast、ViiA7、QuantStudio 6 and 7 Flex Systems; Stratagene: Mx3000P、Mx3005P and Mx4000P; Qiagen/Corbett Rotor-Gene: 3000; Bio-Rad/MJ: Chromo4、Opticon 2 and Opticon
High ROX	ABI GeneAmp 5700、ABI PRISM 7000、7700; ABI 7300、7900HT(Fast)、ABI StepOne(Plus)

## 【实验操作】

### 1. 反应体系（以 20 $\mu\text{L}$ 为例）

组分		推荐用量
2 $\times$ One Step RT-qPCR Buffer	●	10 $\mu\text{L}$
10 $\times$ One Step Enzymes Mix	●	2 $\mu\text{L}$
Forward Primer (10 $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>		0.4 $\mu\text{L}$
Reverse Primer (10 $\mu\text{mol/L}$ ) <sup>a</sup>		0.4 $\mu\text{L}$
50 $\times$ High ROX or Low ROX <sup>b</sup>	●	0.4 $\mu\text{L}$
Template RNA (Total RNA) <sup>c</sup>		1 pg - 1 $\mu\text{g}$
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	○	to 20 $\mu\text{L}$

a. 引物终浓度通常为 0.2  $\mu\text{mol/L}$ ，也可以根据情况在 0.1-1.0  $\mu\text{mol/L}$  范围内调整。

b. 根据不同仪器型号选择使用 High ROX 或 Low ROX，具体参考【适用机型】。

c. qPCR 灵敏度极高，建议 20  $\mu\text{L}$  反应体系中添加 2-5  $\mu\text{L}$  稀释后的模板使 Ct 值在 20-30 之间。



## 2. 扩增程序

### 两步法:

反应阶段	温度	时间	信号采集	循环数
逆转录	50°C <sup>d</sup>	15 min		1
预变性	95°C	3 min		1
循环反应 <sup>e</sup>	95°C	10 Sec		40
	60°C	20 Sec	采集 SYBR 信号	
熔解曲线 <sup>f</sup>	95°C	15 Sec		1
	60°C	60 Sec		
	95°C	15 Sec	持续采集荧光信号	

### 三步法:

反应阶段	温度	时间	信号采集	循环数
逆转录	50°C <sup>d</sup>	15 min		1
预变性	95°C	3 min		1
循环反应 <sup>e</sup>	95°C	10 Sec		40
	55°C	10 Sec		
	72°C	20 Sec	采集 SYBR 信号	
熔解曲线 <sup>f</sup>	95°C	15 Sec		1
	60°C	60 Sec		
	95°C	15 Sec	持续采集荧光信号	

d. 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将反应温度提高至 55°C，有助于提高产量。

e. 可以根据引物退火温度选择两步法扩增，或者常规三步法扩增。

f. 熔解曲线通常使用仪器默认程序即可。





**SERVE SCIENCE**  
**SEE THE FUTURE**