

**BioRT Real Time RT-PCR Kit  
(With ROX)**

**BioRT 实时荧光 RT-PCR 试剂盒(含 ROX)  
说明书**

**TECHNICAL SUPPORT:**

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to  
0086-571-87774553

Email to [reagent@bioer.com.cn](mailto:reagent@bioer.com.cn).

**Website: [www.bioer.com.cn](http://www.bioer.com.cn)**

## 产品说明

本试剂盒是一种一步法实时 RT-PCR 扩增试剂,在同一反应体系中连续进行逆转录(RT)和 PCR 反应,用户使用时只需加入合适的引物探针(染料)和 RNA 模板就可轻松进行荧光定量 RT-PCR 反应。

本试剂盒采用一步法进行,反应过程中无需打开管盖,避免了交叉污染,同时具有高特异性,高灵敏,使用方便等特点。RT-PCR 反应液中含 ROX 染料,可用于 ROX 校比。

## 试剂盒组成

货号	BSB23M2B
试剂盒组成	100 人份
RT-PCR 反应液 (含 ROX)	750 ul×2
增强剂	150 ul
稳定剂	150 ul

## 实验操作

### 1、按以下条件配制反应液

RT-PCR 反应液 (含 ROX)	15 $\mu$ l
增强剂	1.5 $\mu$ l
稳定剂	1.5 $\mu$ l
上游引物 (20uM)	0.5ul
下游引物 (20uM)	0.5ul
探针 (20uM)	0.25ul
实验样品 RNA	X $\mu$ l
RNase free H <sub>2</sub> O	10.75 - X $\mu$ l
总体积	30 $\mu$ l

### 2、实验样品标准反应条件：

90 °C	30 s	
61 °C	20 min	
95 °C	1 min	
95 °C	15 s	} 40-55 cycles
60 °C	1 min	

根据探针标记或染料选择荧光检测通道,60°C 1 min 后检测荧光;根据实验需要设置循环数。

## 使用提示

- 1 适用于所有 RNA 模板，建议使用高质量 RNA；
- 2 引物探针设计的好坏直接影响到 RT-PCR 反应的结果，设计引物考虑多种因素，如 GC 含量，引物长度，引物位置等因素，因此我们建议采用优秀的引物设计软件来设计，如 Primer Premier 5.0 等；
- 3 一步法 RT-PCR 实验应避免 RNase 污染，可采用以下措施：
  - 1) 因人的皮肤表面和唾液都有 RNase，因此实验中应戴一次性手套和口罩；
  - 2) 一步法 RT-PCR 实验应使用专门的仪器和耗材，建议在专门区域操作 RNA；
  - 3) 一步法 RT-PCR 实验相关耗材应使用干热灭菌（180℃，2 小时）或用 0.1% DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在 37℃ 处理 12 小时后在 121℃ 高压灭菌 30 分钟；
- 4 RT-PCR 反应液在取用之前应先离心，吸取时动作要慢，使用后应尽快放回 -20℃。
- 5 加 RNA 模板后需要吹打混匀，上机时避免有挂滴和气泡。