



一步法RT-qPCR检测试剂盒（SYBR Green法）说明书

货号：WGD-X-3100128

一 产品介绍

一步法 RT-qPCR 检测试剂盒（SYBR Green 法）是一款基于 SYBR Green 法，用于一步实现逆转录实时荧光定量 PCR 的试剂盒，组分简单，操作便捷，最大限度减少因多次移液造成的误差，帮助节约实验操作时间，有效降低污染风险。

本试剂盒以 RNA 为模板，使用特异性 qPCR 引物，利用耐热型逆转录酶高效合成第一链 cDNA。在优化的缓冲体系中，以 cDNA 为模板，在热启动 Taq DNA 聚合酶的作用下，可在一管内实现对 RNA 的精确定量。

二 产品目录

产品名称	规格
一步法 RT-qPCR 检测试剂盒（SYBR Green 法）	50 rxns

三 产品组成

组分	50 rxns
2×RT-qPCR SYBR Green Buffer	500 μL
Enzyme Mix	50 μL
DNase/RNase-free H ₂ O	1 mL

四 产品用途

用于一步逆转录实时荧光定量 PCR。

五 产品特点

灵敏度高、特异性好、使用便捷。

六 注意事项

1. 避光保存，使用前混匀，避免反复冻融。
2. 实验过程中请使用 RNase-free 耗材。

七 操作步骤

1. 反应体系

成分名称	用量
2×RT-qPCR SYBR Green Buffer	10 μL
Enzyme Mix	1 μL
RNA	1 ng ~ 1 μg
引物 1（10 μM）	0.4 μL
引物 2（10 μM）	0.4 μL
DNase/RNase-free H ₂ O	to 20 μL



2. 反应条件

循环次数	反应步骤	温度	时间	荧光信号采集
1	逆转录	42 °C	10 min	/
1	第一步	95 °C	5 min	/
40	第二步	95 °C	10 s	/
	第三步	60 °C	30 s	采集
1	熔解段	按照仪器默认设置		

■ 储存及运输条件

-25 ~ -15 °C避光保存，有效期 12 个月。干冰运输。

■ 常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
重复性不好或 扩增效率低	起始 RNA 量不够	增加 RNA 用量。
	RNA 发生降解	此时可以通过 RNA 电泳等来确定 RNA 样品是否被降解。若发生降解，则重新提取 RNA，RNA 溶解使用 DNase/RNase-free H ₂ O，并保存在-80 °C，避免反复冻融。
	RNA 中包含逆转录抑制剂	通过乙醇沉淀去除抑制剂。
	多糖同 RNA 共沉淀	使用氯化锂沉淀 RNA 去除多糖。
	待扩增片段 GC 含量偏高	GC 含量较高情况下 PCR 会较为困难，此时宜更换引物。
	RNA 存在二级结构	RNA 使用前在 65 °C加热 5 min，迅速置于冰上 2 min。
	目的基因含量低	增加 RNA 用量。
	引物设计不佳	请设计合适的引物，注意引物的 GC 含量、二级结构、退火温度、长度、特异性等方面的问题。