

货号：BR1F101

4×Neoscript SYBR qRT Premix
(Universal ROX)

2025V01



产品概述

4×Neoscript SYBR qRT Premix (Universal ROX) 是采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行 Real Time PCR 的专用试剂。本品含有去除 RNase H 活性的高温反转录酶 Neoscript RTase 和新型热启动酶，具有更高的反转录和 PCR 扩增效率，适合于低浓度 RNA 模板的高灵敏度扩增。本试剂搭配 4×gDNA Wiper，采用优化配方的 qPCR 专用 Buffer，可彻底去除 RNA 模板中残留的基因组 DNA 污染对 qPCR 的影响，大大提高了 qPCR 反应的扩增效率和检测灵敏度，可以在较宽的定量区域内得到良好的标准曲线，准确进行定量。本试剂与多数厂家的荧光定量 PCR 仪兼容，如 Applied Biosystems、Eppendorf、Bio-Rad 和 Roche 等。

试剂组成

组分	BR1F101-01 100 rxns (20 µL/rxn)	BR1F101-02 500 rxns (20 µL/rxn)
4×Neoscript SYBR qRT Premix (Universal ROX)*	500 µL	2×1mL+0.5 mL
4×gDNA Wiper Mix	500 µL	2×1mL+0.5 mL

*包含 Reverse Transcriptase、Taq DNA Polymerase、dNTPs、Mg²⁺、SYBR Green、Universal ROX Reference Dye。

保存条件

-20±5℃储存；使用前应混匀，避免反复冻融。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. 该体系常用 50℃进行反转录反应，可以在 42℃~55℃范围内进行反转录温度优化；根据反应特征不同，可以在 5~30 min 内对反转录时间进行优化。
3. 该体系所用的 Neoscript RTase 是在 M-MLV 基础上进行了基因改造，具有更高的温度耐受性和反转录温度，对 RNA 复杂结构模板具有更高的反转录效率。
4. 该体系具有良好的体系稳定性和适用性，非常适用于病毒类、组织提取 RNA 复杂模板的检测；对极低浓度模板的扩增效果更加稳定，适合于高灵敏度分子诊断试剂使用。
5. 对于退火温度较低的引物或超过 200 bp 长片段扩增建议采用三步法。
6. 扩增前后请使用专用的区域和移液器，戴手套操作并经常更换；PCR 反应完成后切勿打开反应管，以最大限度地减少 PCR 产物对样品的污染。

qRT-PCR 反应体系配制

1. RNA 模板中基因组 DNA 去除(可选)

试剂	加入量
4×gDNA Wiper Mix	5 µL
Template RNA	10 pg ~1 µg*
RNase-free ddH ₂ O	To 20 µL

*根据实验要求加入合适的 RNA 量。

货号: BR1F101

4×Neoscript SYBR qRT Premix (Universal ROX)

2025V01



2. 使用移液器吹打混匀后, 42°C加热 2 min (可使用 PCR 仪控温)。
3. 取一支新的无酶 Ep 管, 加入以下组分, 至总体积为 20 μ L (在冰上进行配制), 轻轻混匀。

试剂	加入量
4×NeoscriptSYBRqRTPremix (Universal ROX)	5 μ L
25×Primer Mix	0.8 μ L*
Template RNA	10 pg~1 μ g*
RNase-free ddH ₂ O	To 20 μ L

*通常引物终浓度为 0.2 μ M 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2~1 μ M 范围内调整引物浓度。

反应条件

步骤	温度	时长	循环数
逆转录	50℃	10~20 min	1
预变性 ¹	95℃	1 min	1
变性	95℃	10~20 s	40~50
*退火延伸 ²	56~64℃	20~60 s	
*熔解曲线分析 ³			

1. 预变性条件适合绝大多数扩增反应, 如模板结构复杂, 可将预变性时间延长至 3 分钟以提高预变性效果。
2. 超过 200 bp 时, 推荐延伸时间适当延长, 退火延伸的温度根据设计的引物 T_m 值进行调整。
3. 熔解曲线分析请以所使用的荧光定量 PCR 仪推荐的程序进行设定, 本程序是以宏石 SLAN-96S 荧光定量 PCR 仪为参照设定, 熔解曲线阶段升降温速率为 0.06°C/s。
4. *标注处设置信号采集。