

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:130609-50  
低温运输, -20℃保存

**TIANDZ**

## 一步式 RT-PCR 试剂盒

One-Step RT-PCR Kit

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是高效 cDNA 合成和 PCR 扩增的一步法 RT-PCR 试剂盒，用于以 RNA 为模板，通过特异引物合成 cDNA 之后，在 DNA 聚合酶的作用下通过 PCR 技术检测目标基因的含量。本产品特点如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 实现一管式完成 RT-PCR 反应，避免样品交叉污染。</li> <li>2. 反应产物加入 Loading Buffer 后可以直接电泳检测。</li> <li>3. 本产品包含了 cDNA 合成以及 PCR 反应所必须的酶和反应体系，优化的 Buffer 体系最大程度的减少了反转录酶对扩增反应的抑制，提高了反应整体的敏感性。</li> <li>4. 本试剂盒足够 50 次 20<math>\mu</math>L 体系的 RT-PCR，只能用于科研目的。</li> </ol>																							
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="539 707 1394 1025"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>十孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>一步式 RT-PCR Mix, 5<math>\times</math></td> <td>130609a</td> <td>75 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer, 5 <math>\times</math></td> <td>130609b</td> <td>200 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>DEPC-ddH<sub>2</sub>O</td> <td>80403-1</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>130609sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	十孔盒包装	一步式 RT-PCR Mix, 5 $\times$	130609a	75 $\mu$ L	RT Buffer, 5 $\times$	130609b	200 $\mu$ L	DEPC-ddH <sub>2</sub> O	80403-1	1 mL	使用手册	130609sc	1 份						
成份	编号	十孔盒包装																						
一步式 RT-PCR Mix, 5 $\times$	130609a	75 $\mu$ L																						
RT Buffer, 5 $\times$	130609b	200 $\mu$ L																						
DEPC-ddH <sub>2</sub> O	80403-1	1 mL																						
使用手册	130609sc	1 份																						
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>低温运输，-20<math>^{\circ}</math>C 保存，有效期一年。</p>																							
<p><b>自备试剂</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. RNA 模板</li> <li>2. 自备引物。</li> </ol>																							
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>一、样品 RNA 的制备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 用自选方法纯化样品的 RNA，本试剂盒跟市场上大多数 RNA 提取试剂盒兼容。也可以选购本公司的 RNAout 系列产品。</li> </ol> <p><b>二、设置一管式 RT-PCR 反应 (20 <math>\mu</math>L 体系)</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. 在 N+1 个干净的无 RNase 的 PCR 管中 (N=样品数，另外一个为阴性对照。用户可以设置其他对照，样品数需相应增加)，按下表加入各成分：</li> </ol> <table border="1" data-bbox="480 1610 1453 2056"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>阴性对照管</th> <th>样品管</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>RNA 模板 (自备)</td> <td>无</td> <td>1-2 <math>\mu</math>g</td> </tr> <tr> <td>上游引物 (10 <math>\mu</math>M)</td> <td>0.5 <math>\mu</math>L</td> <td>0.5 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>下游引物 (10 <math>\mu</math>M)</td> <td>0.5 <math>\mu</math>L</td> <td>0.5 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer, 5 <math>\times</math></td> <td>4 <math>\mu</math>L</td> <td>4 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>一步式 RT-PCR Mix, 5<math>\times</math></td> <td>1.5 <math>\mu</math>L</td> <td>1.5 <math>\mu</math>L</td> </tr> <tr> <td>DEPC-ddH<sub>2</sub>O</td> <td>补到 20 <math>\mu</math>L</td> <td>补到 20 <math>\mu</math>L</td> </tr> </tbody> </table> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. 轻柔混合均匀后放入 PCR 仪中进行 RT-PCR。</li> </ol>			成分	阴性对照管	样品管	RNA 模板 (自备)	无	1-2 $\mu$ g	上游引物 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	下游引物 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L	RT Buffer, 5 $\times$	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L	一步式 RT-PCR Mix, 5 $\times$	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ L	DEPC-ddH <sub>2</sub> O	补到 20 $\mu$ L	补到 20 $\mu$ L
成分	阴性对照管	样品管																						
RNA 模板 (自备)	无	1-2 $\mu$ g																						
上游引物 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L																						
下游引物 (10 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ L	0.5 $\mu$ L																						
RT Buffer, 5 $\times$	4 $\mu$ L	4 $\mu$ L																						
一步式 RT-PCR Mix, 5 $\times$	1.5 $\mu$ L	1.5 $\mu$ L																						
DEPC-ddH <sub>2</sub> O	补到 20 $\mu$ L	补到 20 $\mu$ L																						

	<p>4. 设定 RT-PCR 反应条件时, 一般将 RT 的条件设定成 50°C 30 min, 后接 94°C 预变性 2 min, 94°C 变性 30 sec, 退火 50-60°C 30 sec, 延伸 72°C 1 kb/min, 最后 3 步重复 30-40 个循环。终延伸 72°C 5-10 min。</p>
<b>注意事项</b>	<p>1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。</p> <p>2. 除酶以外的各种试剂, 使用之前请完全溶解并充分混匀, 以防因盐离子浓度不均影响实验结果。</p> <p>3. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用, 因此请选择可靠的 RNA 提取/纯化方法。</p> <p>4. 如果扩增片段较长或者 RNA 结构复杂, 可以将 RNA 单独置于 65-70°C 加热 5-10 min 后再加入体系。</p>
<b>关联产品</b>	<p>两管式 RT-PCR 试剂盒(CAT#:80206)。</p>