

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; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

| <p>产品及特点</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"> 1. 实现一管式完成 RT-PCR 反应，避免样品交叉污染。 2. 反应产物加入 Loading Buffer 后可以直接电泳检测。 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。 4. 本试剂盒足够 50 次 20μL 体系的 RT-PCR，只能用于科研目的。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|---|---------------|--|----|-------|-------|----------------------------|---------|-------------|-----------------------|-------------|-------------|-------------------------|-------------|-------------|-----------------------|-----------|-----------|----------------------------|-------------|-------------|-------------------------|---------------|---------------|
| <p>规格及成分</p> | <table border="1" data-bbox="539 705 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\times</td> <td>130609a</td> <td>75 μL</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer, 5 \times</td> <td>130609b</td> <td>200 μL</td> </tr> <tr> <td>DEPC-ddH₂O</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 μ L | RT Buffer, 5 \times | 130609b | 200 μ L | DEPC-ddH ₂ 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 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RT Buffer, 5 \times | 130609b | 200 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DEPC-ddH ₂ O | 80403-1 | 1 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 使用手册 | 130609sc | 1 份 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>运输及保存</p> | <p>低温运输，-20$^{\circ}$C 保存，有效期一年。</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>自备试剂</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. RNA 模板 2. 自备引物。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>使用方法</p> | <p>一、样品 RNA 的制备</p> <ol style="list-style-type: none"> 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。 <p>二、设置一管式 RT-PCR 反应 (20 μL 体系)</p> <ol style="list-style-type: none"> 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： <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 μg</td> </tr> <tr> <td>上游引物 (10 μM)</td> <td>0.5 μL</td> <td>0.5 μL</td> </tr> <tr> <td>下游引物 (10 μM)</td> <td>0.5 μL</td> <td>0.5 μL</td> </tr> <tr> <td>RT Buffer, 5 \times</td> <td>4 μL</td> <td>4 μL</td> </tr> <tr> <td>一步式 RT-PCR Mix, 5\times</td> <td>1.5 μL</td> <td>1.5 μL</td> </tr> <tr> <td>DEPC-ddH₂O</td> <td>补到 20 μL</td> <td>补到 20 μL</td> </tr> </tbody> </table> <ol style="list-style-type: none"> 3. 轻柔混合均匀后放入 PCR 仪中进行 RT-PCR。 | | | 成分 | 阴性对照管 | 样品管 | RNA 模板 (自备) | 无 | 1-2 μ g | 上游引物 (10 μ M) | 0.5 μ L | 0.5 μ L | 下游引物 (10 μ M) | 0.5 μ L | 0.5 μ L | RT Buffer, 5 \times | 4 μ L | 4 μ L | 一步式 RT-PCR Mix, 5 \times | 1.5 μ L | 1.5 μ L | DEPC-ddH ₂ O | 补到 20 μ L | 补到 20 μ L |
| 成分 | 阴性对照管 | 样品管 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RNA 模板 (自备) | 无 | 1-2 μ g | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 上游引物 (10 μ M) | 0.5 μ L | 0.5 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 下游引物 (10 μ M) | 0.5 μ L | 0.5 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RT Buffer, 5 \times | 4 μ L | 4 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 一步式 RT-PCR Mix, 5 \times | 1.5 μ L | 1.5 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DEPC-ddH ₂ O | 补到 20 μ L | 补到 20 μ 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> |
| 注意事项 | <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> |
| 关联产品 | <p>两管式 RT-PCR 试剂盒(CAT#:80206)。</p> |