



# 一步法 RT-PCR 试剂盒

(Novoprotein 目录号: E042)

地址: 上海市浦东新区张江高科技园蔡伦路 720 号 2 号楼

电话: 021-50798060, 邮箱: product@novoprotein.com.cn

### 一、 产品描述 (50 次):

一步法 RT-PCR 试剂盒是基于本公司生产的 M-MuLV 反转录酶(E020)和 Taq DNA 聚合酶,对缓冲液系统进行优化使反转录酶和聚合酶同时发挥最大功效,具有方便、快速、灵敏度高、重复性好等特点。该试剂盒能以动物、植物和微生物的总 RNA 或 mRNA 为模板,cDNA 合成和 PCR 反应在一个管中进行,逆转录结束后可直接进行 PCR 循环而不用增加额外的步骤;同时可对低至 0.1ng 的总 RNA 进行扩增,有助于大量样品的处理并减少污染。

# 二、 产品特点:

- 1)效率高,可高转录 GC 含量高,二级结构复杂的 RNA 模板。
- 2) 耐热性及稳定性强。
- 3)操作简单迅速,最大限度的避免污染。
- 4) 独特的缓冲体系使逆转录酶和聚合酶同时发挥最大功效。

# 三、产品包装(50次):

组分	体积
M-MuLV 反转录酶(200U/μL)	50μ1
2×RT-PCR Reaction Buffer	500μ1
RNase Free Water	1ml

2×RT-PCR Reaction Buffer 中包含 Taq DNA 聚合酶、dNTP、Mg<sup>2+</sup>、RNase Inhibitor 以及反应缓冲液。

#### 四、 操作方法:

- 1. 将 RNA 模板、引物、2×RT-PCR Buffer 和 RNase-Free Water 溶解并置于冰上备用。
- 2. 配制反应体系

组分	体积
RNA	0.1ng-5ug
M-MuLV 反转录酶(E020)	1μ1
2×RT-PCR Reaction Buffer	10μ1
上游引物,10μ <b>M</b>	0.5-1μl
上游引物,10μM	0.5-1μl
补充 RNase Free Water	至 20山





# 一步法 RT-PCR 试剂盒

(Novoprotein 目录号: E042)

地址:上海市浦东新区张江高科技园蔡伦路 720 号 2 号楼

电话: 021-50798060, 邮箱: product@novoprotein.com.cn

3. 涡旋震荡混匀,短暂离心,使管壁上的溶液收集到管底。

4. 设置反应程序

42℃ 60 分钟

95℃ 5分钟

25-30 循环 95℃, 20 秒/58℃,

20 秒/72℃,

根据产物长度调整 1min/kb

72℃ 5分钟

4℃ 保温

#### 五、 保存条件:

请将各试剂储存于-20℃,避免多次反复冻融。

# 六、 注意事项:

- 1. 本试剂盒 M-MuLV 反转录酶(E020)单独分装, 便于客户进行无 M-MuLV 反转录酶(E020)的对照试验。
- 2. 本试剂盒延伸时间为 1kb/min,客户可根据具体片段长度进行延伸时间的调整;
- 3. 通常情况,28-30 个循环可达到最佳扩增,对于低拷贝目的基因的检测,可将循环数增加到40个。
- 4. 如果同时操作多个样品,建议先在冰上先配置预混液,然后再分装到各个反应管中,加入模板启动反应。
- 5. 反应出现目标条带拖带,系模板浓度过高或特异引物浓度不适等原因所致,可对模板及引物浓度等进行调整;反应出现杂带,可对退火温度进行调整,或重新设计特异性高的引物。
- 6. RT-PCR 一步法只需使用特异性反转录引物, 无需使用 Random Primer 和 OligodT Primer 等进行反转录反应。