

One-Step RT-PCR Kit

一步法 RT-PCR 检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL640A	一步法 RT-PCR 检测试剂盒	50T
BL640B	一步法 RT-PCR 检测试剂盒	200T

产品简介：

本试剂盒采用一步法高效地将 RNA 反转录成第一链 cDNA，并进行 PCR 扩增。通过 PCR 技术，以 RNA 为模板，利用基因特异性引物、One-step RT-PCR Mix 和 Reaction Buffer 合成第一链 cDNA 后，在热启动 DNA 聚合酶的作用下检测目的基因的含量。本试剂盒为反转录和 PCR 反应均在同一管内完成，无需额外开管和移液操作，操作简便快速，最大限度地减少人为误差和人工操作时间，并减少污染风险，提高检测通量。用户只需自备引物和 RNA 样品即可。反应产物加入 loading buffer 后可直接电泳检测。本试剂盒中的 5×Reaction Buffer 包含必要的离子组分、dNTPs 以及 PCR 稳定剂和增强剂，One Step RT-PCR Enzyme Mix 包含比例优化的逆转录酶、RNA 酶抑制剂以及 DNA 聚合酶。

产品组分

组分	BL640A (50T)	BL640B (200T)
One-step RT-PCR Enzyme Mix	75μl	300 μl
5 × Reaction Buffer	200 μl	800 μl
RNase-free ddH2O	1 ml	4×1 ml

使用方法：

1. 按照下表配制反应体系

组分	体积
RNA 模板	1-2 μl (1-2ug)
上游引物 (10 μM)	0.5 μl-1μl
下游引物 (10 μM)	0.5 μl-1μl
5 × Reaction Buffer	4 μl
One-step RT-PCR Mix	1.5 μl
RNase-free ddH2O	补至 20 μl

2. 反应设置

流程	温度	时间	循环数
反转录	50°C	30 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	40
退火	50-60°C	30 sec	
延伸	72°C	1 kb/min	
终延伸	72°C	5-10 min	1

3. PCR 程序结束后，在 PCR 产物中添加 loading buffer 后进行琼脂糖电泳检测。

注意事项

1. 实验所用的离心管、吸头等耗材均需保证 RNase-free；实验过程中请保持实验区域洁净，注意避免 RNase 污染；RNA 样品要避免基因组 DNA 污染。
2. 请利用适宜的 RNA 提取方法，确保 RNA 模板完整性，以获得高质量的 RNA 模板。
3. 本试剂盒可根据具体实验选择使用特异性引物。
4. 除酶以外的试剂请在使用前完全溶解并充分混匀。
5. 如果扩增片段较长或者 RNA 结构复杂，可将 RNA 单独置于 65-70°C 加热 5-10 min 后再加入体系内，可提高反转录效率。
6. 实验全程应在冰浴条件下进行；当同时进行多次 RT-PCR 反应时，先将所需试剂配制成混合液后再分装到 PCR 管内，以减少实验操作或误差。
7. 本试剂盒仅限于专业人员的科研使用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品、药品或化妆品，不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套和口罩操作。

保存条件

-20°C 保存，保质期 2 年。