

CAT#: GZ020402



一步法 RT-PCR 扩增试剂盒 (去除基因组)

One Step RT-PCR Kit(with gDNase)

使用手册 V2.1

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂盒是专为一步法 RT-PCR 实验研制，去除基因组 DNA、逆转录和 PCR 在同一反应体系中进行，反应过程中无需添加试剂，无需打开管盖，在避免污染的同时提高了检测灵敏度和实验效率。本试剂盒包括极其灵敏的去掉基因组 DNA 的酶，可在瞬间彻底清除残留的基因组，还有全新高效逆转录酶、快速热启动 DNA 聚合酶，同时包含适用于逆转录和 PCR 扩增的反应缓冲液和实验中所必需的其它组分。SuperRT 逆转录酶 RNase H 活性缺失，减少了逆转录反应中 RNA 的降解。该逆转录酶逆转录效率高，可对少量 RNA 模板进行良好的逆转录反应。PCR 反应使用的快速热启动 DNA 聚合酶具有扩增效率高、特异性强、延伸速度快的优良性能。独特的缓冲体系使逆转录酶和聚合酶同时发挥最大功效。使用本试剂盒扩增得到的目的产物 3'端附有一个“A”碱基，可直接用于 T/A 克隆。

成分规格

产品组成	GZ020402-50	GZ020402-100
2×OneStep RT-PCR Mix(with gDNase)	500 ul	1 ml
RNase-Free Water	1 ml	1 ml

保存条件

长期保存，请置于-20℃，有效期 24 个月。使用后请及时放入-20℃保存以保证酶的活性。

使用方法

1. 将 RNA 模板、引物、2×OneStep RT-PCR Mix(with gDNase)和 RNase-Free Water 溶解并置于冰上备用。
2. 按下表加入试剂，至终体积 20 μl:

试剂	20 μl 反应体系	终浓度
2×OneStep RT-PCR Mix(with gDNase)	10 μl	1×
Forward Primer, 10 μM	0.4 μl	0.25 μM
Reverse Primer, 10 μM	0.4 μl	0.25 μM

RNA Template	X μ l	1 pg -1 μ g
RNase-Free Water	up to 20 μ l	

(注意：引物浓度请以终浓度 0.1-1.0 μ M 作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。)

3. 涡旋震荡混匀，短暂离心，将溶液收集到管底。

4. 设置反应程序，将 PCR 管置于热循环仪中，进行 RT-PCR 反应。

反应条件：

过程	温度	时间
去除基因组 DNA	37°C	5 min
反转录	50°C	5-30 min
PCR 预变性	95°C	2 min
30-40 cycles	变性	95°C
	退火	55-65°C
	延伸	72°C
		1kb/30 sec
终延伸	72°C	5 min

(注意：a.一般 PCR 实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低 5°C，退火时间一般为 20-30 秒，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。b.延伸时间根据扩增的片段大小设定，本产品中包含的 DNA Polymerase 扩增效率为 1 kb/30s。c.可根据扩增产物的下游应用设定循环数。循环次数太少，扩增量不足；循环次数多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以，在保证产物得率的前提下，应尽量减少循环次数。)

5. 反应结束后取 5 μ l 反应产物，加入适量上样缓冲液后进行电泳检测结果。

注意事项

- 在操作过程中应避免 RNase 污染，防止 RNA 降解或实验中的交叉污染，建议在专门的区域进行 RNA 操作，使用专门的仪器和耗材，操作人员带口罩和一次性手套并经常更换手套。
- 实验尽量使用一次性塑料器皿，若使用玻璃器皿，应使用 0.1%DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在 37°C 处理 12 小时，并在 120°C 下高压灭菌 30 分钟后使用，或者将玻璃器皿在 180°C 下干热灭菌 60 分钟后使用。实验中用到的无菌水应使用 0.1%的 DEPC 处理后进行高压灭菌。
- 本试剂使用前请上下颠倒轻轻混匀，尽量避免起泡，并经短暂离心后使用。使用后应尽快放回 -20°C，避免反复冻融。

- 本试剂盒必须使用特异性引物，引物的选择可根据具体实验来选择，引物设计的好坏直接影响到 RT-PCR 反应的结果，设计引物时需考虑 GC 含量，引物长度，引物位置，PCR 产物的二级结构等因素，建议采用专业的引物设计软件来设计。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070505-1	一步法 RT-PCR 扩增试剂盒
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ070104	6×Loading Buffer
GZ070105	50×TAE
GZ070106	10×TBE



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯