

# TRUEscript One Step RT-PCR Kit



北京艾德莱生物科技有限公司  
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：[www.aidlab.cn](http://www.aidlab.cn) 邮箱：[info@aidlab.cn](mailto:info@aidlab.cn)

## 包装量：

目录编号	包装单位
PC3401	100次×20 µl
PC3402	200次×20 µl

组成	PC3401	PC3402
2×OneStep RT-PCR Mix	1 ml	2×1 ml
TRUEscript OneStep Enzyme Mix	100 µl	2×100 µl
RNase free H <sub>2</sub> O	1ml	2×1 ml

## 产品储存：

储存：-20°C 保存，有效期 12 个月。

**制品说明：**本试剂盒是专为进一步法 RT-PCR 实验配制的，使用该试剂盒能够方便快捷的在同一个反应管内完成逆转录反应和 PCR 扩增反应。反应过程中无需打开管盖添加试剂，避免了污染的同时提高了检测灵敏度和实验效率。本试剂盒包括最佳配比优化的 OneStep Enzyme Mix (包含突变改造 TRUEscript M-MuLV H Minus 逆转录酶、热启动 HotMaster Taq DNA 聚合酶和 RNasin 抑制剂 mix)，同时包含适用于逆转录和 PCR 扩增的独特 2×RT-PCR Mix 反应体系。本酶 M-MuLV(RNase H<sup>-</sup>)的 RNase H 活性缺失，与 M-MuLV 相比，具有更强的延伸能力和稳定性，可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。同时该酶提高了耐热性，可以在 42-50°C 反转录，提高了复杂二级结构，GC 含量丰富模板反转录效率。

**适用范围：**适用于高拷贝、低拷贝基因检测；部分高 GC 含量或具有复杂二级结构的 RNA 模板。

## 建议反应体系 (20 µl-50 µl)：

**注意：**2×RT-PCR Mix 使用前充分融解颠倒混匀 (避免剧烈涡旋产生大量气泡)。短期频繁使用可放 4°C 冰箱。

## 根据下表冰上配制反应液：

Components	Volume	Final Concentration
2×RT-PCR Mix	10 µl	1 ×
Forward Primer (10µM)	0.4 µl	0.2 µM
Reverse Primer (10µM)	0.4 µl	0.2 µM
TRUEscript Enzyme Mix	1 µl	-
RNA template	X µl	0.1-2 µg
RNase free H <sub>2</sub> O to final volume	20 µl	Not applicable

**注意：**引物浓度请以终浓度 0.2-0.6µM 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。如果同进行多个反应，先按比例配成混合液，振荡混匀后，按每管 20-Xµl (X 为模板量)分装。

### PCR 扩增：

1. 将配制好的反应体系混匀、离心后。
2. 将热循环仪预热到 50°C，将 PCR 管置于热循环仪中，按以下反应条件进行反应。

扩增程序：

	温度	时间	循环数
1	50°C	30 分钟	1
2	94°C	2-3 分钟	1
3	94°C	30 秒	30-40
	50-60°C	30 秒	
	72°C	1-2kb/分钟	
4	72°C	5-10 分钟	1
5	4°C	保温	

**注意：**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。

### 注意事项：

- 避免RNase污染。
- 为保证反应成功建议使用高质量的RNA模板
- 不同的片段，所需最佳RNA模板用量不同，过多的RNA会抑制反应，建议根据反应调整模板用量。
- 不能使用 Oligo(dT) 和 Random Primer 合成 cDNA。