

产品概述

AcuGenix™ LongR One-Step RT-PCR Kit 采用两组分预混设计-2×One Step Buffer 与 Enzyme Mix, 是专为长链 RNA 模板设计的一站式闭管扩增解决方案, 通过定向进化改造的长程工程酶系与预优化长片段扩增缓冲体系的协同作用, 将逆转录 (RT) 与高保真 PCR 整合至单管反应, 无需中间纯化或开管操作, 大幅降低气溶胶污染风险。

经严格批次验证, 本试剂盒具备行业领先的长片段扩增性能: 可稳定合成并扩增 **>10 kb 的长链 RNA 模板**, 支持 **20 sec/kb** 的极速延伸效率, 仅需 **10 pg 高丰度总 RNA** 即可实现稳定检出, 可在 **30 分钟内完成逆转录**, 较常规长片段一步法 RT-PCR 效率提升 2 倍以上。

本试剂盒搭载的热稳定长程逆转录酶具备极强的持续合成能力与 RNA 二级结构解旋活性, 可高效跨越高 GC、复杂二级结构区域, 合成全长长链 cDNA; 搭配抗体封闭型热启动高保真 DNA 聚合酶, 保留 3'→5' 外切酶校对活性, 有效降低长片段扩增的错配风险。预优化缓冲液含长片段扩增增强剂与背景抑制组分, 可显著抑制引物二聚体与非特异性扩增, 无需繁琐的引物浓度优化即可实现长靶标的均一扩增。

本产品经严格质控, 无 RNase、DNase 及外源核酸污染, 批次间扩增效率与特异性变异系数 (CV) <5%, 适用于长链 RNA 病毒全基因组检测、全长转录本分析、lncRNA/circRNA 扩增、单细胞全长 cDNA 合成等分子生物学研究场景。 **仅限科研用途。**

试剂组成

组分名称	BR3M321-03 (24 T)	BR3M321-06 (96 T)
2×One Step Buffer	300 μL	1200 μL
One Step Enzyme Mix	72 μL	288 μL

保存条件

-20±5℃存储。

注意事项

1. 请使用无 RNase 污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理。
2. 扩增所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 本产品仅用作科研用途。

使用方法

1. 反应体系配制

1.1 将 2×One Step Buffer 置于冰盒上解冻, 充分混匀, 瞬时离心备用。One Step Enzyme Mix 轻轻混匀, 避免起泡, 离心后置于冰盒备用。按照表 1 在 RNase-free 离心管中配制反应液:

表 1 RT PCR 反应体系

组分名称	体积 (μL)	终浓度
2×One Step Buffer	12.5	1×
One Step Enzyme Mix	3	
Gene Specific Primer Forward (10 μM)	1	0.4 μM

Gene Specific Primer Reverse (10 μM)	1	0.4 μM
RNA 模板	X	
RNase-free ddH ₂ O	Up to 25	

注: 可根据实验需要调整反应体积, 各组分按比例进行调整即可。

2. 扩增程序

2.1 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将管壁反应液离心至管底, 在 PCR 仪上进行如下反应:

表 2. 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
1	50°C	30 min	1
2	95°C	3 min	1
3	95°C	20 sec	30~35
4	60°C ^a	15 sec	
5	72°C	20 sec~1 min/kb ^b	
6	4°C	∞	1

注 a: 根据引物 T_m 值适当调整退火温度 (常规设置成低于引物退火温度 1~2°C 即可)。

注 b: 根据需要调整延伸时间, 一般来说, 延长延伸时间有利于提高扩增产量。

2.2 扩增产物使用琼脂糖凝胶电泳检测。