

产品概述

NeoScript One Step RT-PCR Kit 是针对 RNA 模板的终点法 PCR 检测试剂，使用基因特异性引物，RNA→cDNA→PCR 操作在同一反应体系连续进行，不需要额外的加液，简化了实验操作。本试剂盒采用高温反转录酶 NeoscriptRTase、新型热启动酶以及 RNA 酶抑制剂，搭配经过优化的缓冲体系，扩增片段长度可达 10kb 以上。

产品信息

产品名称	货号	规格
NeoScript One Step RT-PCR Kit	BR3M321-03	24T
	BR3M321-06	96T

产品组分

组分名称	组分编号	24T	96T
2×One Step Buffer	3M321-A	300μL	1200μL
One Step Enzyme Mix	3M321-B	72μL	288μL

保存条件

-20°C保存。使用前请先混匀，并避免反复冻融。

使用方法

1. 实验操作

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	
One Step Enzyme Mix	3	
Gene Specific Primer Forward (10μM)	1	0.4μM
Gene Specific Primer Reverse (10μM)	1	0.4μM
RNase-free ddH2O	7.5-X	
RNA 模板	X	
Total	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。

1.2 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：

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/

1	50°C	30min	1
2	95°C	3min	1
3	95°C	20s	
4	60°C ^a	15s	30-35
5	72°C	20s-1min/kb ^b	
6	4°C	∞	1

注: a 根据引物 Tm 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)。

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。

1.3 扩增产物使用琼脂糖凝胶电泳检测。

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。