

NovoScript® One-Step RT-PCR Kit

目录号: E045

产品描述:

NovoScript® One-Step RT-PCR Kit一步法RT-PCR试剂盒是基于本公司NovoScript® Reverse Transcriptase反转录酶 (Cat. No: E123) 和HotStart Taq DNA聚合酶 (Cat. No: E097), 对缓冲液体系进行优化使反转录酶和聚合酶同时发挥最大功效, 具有方便、快速、灵敏度高、重复性好等特点。该试剂盒能以动物、植物和微生物的总RNA或mRNA为模板, cDNA合成和PCR反应在一个管中进行, 反转录结束后可直接进行PCR循环而不用增加额外的步骤; 同时可对低至0.1ng的总RNA进行扩增, 有助于大量样品的处理并减少污染机会。

产品特点:

- 效率高, 可反转录 GC 含量高, 二级结构复杂的 RNA 模板。
- 独特的缓冲体系使反转录酶和聚合酶同时发挥最大功效。
- 操作简单, 可最大限度的避免污染。

注意事项:

- 1) 本试剂盒 PCR 扩增延伸时间为 1kb/min, 客户可根据具体片段长度进行延伸时间的调整。
- 2) 通常情况, 28~30 个循环可达到最佳扩增, 对于低拷贝目的基因的检测, 可将循环数增加到 40 个。
- 3) 如果同时操作多个样品, 建议先在冰上先配制预混液, 然后再分装到各个反应管中, 加入模板启动反应。
- 4) 反应出现目标条带拖带, 系模板浓度过高或特异引物浓度不适等原因所致, 可对模板及引物浓度等进行调整; 反应出现杂带, 可对退火温度进行调整, 或重新设计特异性高的引物。
- 5) 本试剂盒只需使用特异性反转录引物, 无需使用 Random Primer 和 OligodT Primer 等进行反转录反应。
- 6) 为了保证反应的正常进行, 需使用高质量的 RNA 模板。

保存温度: -20°C。

产品包装 (A 包装):

产品组成	体积
NovoScript® RT Enzyme Mix	200µl
2×NovoScript® One-Step RT-PCR SuperMix	1ml×2
RNase Free Water	1ml×2

质量控制:

纯度检测: 所有组分经检测均无核酸内切酶残留、核酸外切酶残留、核酸残留。

操作方法:

1) 将 RNA 模板、引物、2×NovoScript® One-Step RT-PCR SuperMix, NovoScript® RT Enzyme Mix 和 RNase Free Water 溶解并置于冰上备用。

2) 配制以下反应体系:

模板 RNA	0.1ng-5ug
NovoScript® RT Enzyme Mix	1µl
2×NovoScript® One-Step RT-PCR SuperMix	10µl
上游引物 (10µM)	0.5-1µl
下游引物 (10µM)	0.5-1µl
RNase Free Water	To 20µl

3) 轻轻混匀后短暂离心, 使管壁上的溶液收集到管底。

4) 设置反应程序:

42°C	30min
95°C	2min
30-35 次循环:	95°C, 20s 55-60°C, 20s 72°C, 1kb/60s
72°C	5min
4°C	保温