



# HiPerformance One Step RT-PCR Kit

## PCR501

### 产品概述

Product Overview

本产品专为以 RNA 为模板(如 RNA 病毒)的终点法 PCR 检测而设计,通过使用基因特异性引物(GSP),将逆转录和 PCR 反应整合在一管内完成,不需要额外的开管/移液操作,节省操作时间的同时提高检测通量,并降低污染的风险。整合 Reverse Transcriptase 以及 Taq HS DNA Polymerase 的优越性能,配合经过优化的缓冲体系,可从 1 pg 总 RNA 量中检测到目的片段,并扩增长达 10 kb 的片段。

### 产品组成

Product Composition

组 分	50 rxns (50 $\mu$ L/run)
2 $\times$ One Step buffer (Dye Plus) <sup>*1</sup>	2 $\times$ 625 $\mu$ L
One Step Enzyme Mix <sup>*2</sup>	125 $\mu$ L
RNase-free H <sub>2</sub> O	2 $\times$ 1 mL

\*1. 包含dNTP、甘油及染料;

\*2. 包含RNase Inhibitor。

### 注意事项

Precautions

- 防止 RNase 污染,请保持实验区域洁净;操作时需要戴干净的手套、口罩;实验所用的离心管、枪头等耗材均需 RNase-free。
- 退火温度需要根据引物退火温度调整。对于 > 5 kb 的片段,推荐使用长引物, T<sub>m</sub> 值在 68 ~ 70°C,把退火/延伸温度合并为 68°C。这样可以显著提高扩增特异性。详见实验流程。
- 对于 > 5 kb 的片段,延伸时间最少设置为 1 min/kb。一般来说,延伸时间的延长有利于提高扩增产量。详见实验流程。

### 操作流程

Operation Process

#### 1. 反应体系配制

组 分	使用量
RNase-free H <sub>2</sub> O	Up to 50 $\mu$ L
2 $\times$ One Step buffer (Dye Plus)	25 $\mu$ L
One Step Enzyme Mix	2.5 $\mu$ L
Gene Specific Primer Forward (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L
Gene Specific Primer Reverse (10 $\mu$ M)	2 $\mu$ L
模板 RNA	Total RNA: 1 pg - 1 $\mu$ g

## 2. 反应程序

目的片段 < 5 kb

反应温度	时间	循环数
50°C <sup>*1</sup>	30 min	
94°C	3 min	
94°C	30 sec	30 - 35 cycles
55 ~ 72°C <sup>*2</sup>	30 sec	
72°C	0.5 - 1 min/kb <sup>*3</sup>	
72°C	7 min	
4°C	Hold	

目的片段 > 5 kb

反应温度	时间	循环数
50°C <sup>*1</sup>	30 min	
94°C	3 min	
94°C	30 sec	30 - 35 cycles
68°C <sup>*2</sup>	1 min/kb <sup>*3</sup>	
72°C	7 min	
4°C	Hold	

\*1. 如扩增基因的 RNA 模板具复杂的二级结构或高 GC 含量，可将逆转录步骤反应温度提高至 55°C，有助于提高产量。

\*2. 退火温度需要根据引物退火温度调整。对于 >5 kb 的片段，推荐使用长引物，T<sub>m</sub> 值在 68 ~ 70°C，把退火/延伸温度合并为 68°C。这样可以显著提高扩增特异性。

\*3. 对于 > 5 kb 的片段，延伸时间最少设置为 1 min/kb。一般来说，延伸时间的延长有利于提高扩增产量。

## 3. 产物直接用琼脂糖凝胶电泳检测

### 保存条件

Storage Conditions

-30 ~ -15°C 保存，干冰/-20°C 运输。保质期限 18 个月。