

One Step RT Mix

货号：AC17187

规格：50T/200T

保存：-20℃保存长期保存，使用前应混匀，避免反复冻融。

产品内容：

25×One Step RTase mix

5×One Step RT Mix Buffer

产品介绍：

One Step RT Premix 是一步法（One Step）RT PCR 反应的专用试剂，反应过程在同一管内连续进行，避免开管，能有效防止污染。本品含有高温反转录酶（RNase H）和新型热启动酶，采用优化配方的专用 Buffer，具有更高的反转录和 PCR 扩增效率，适合于低浓度 RNA 模板的高灵敏度扩增。

试剂原理：

One Step RT Premix 首先采用反转录酶以RNA为模板合成 cDNA，然后再以合成的cDNA为模板，经过PCR扩增反应的热变性、引物退火、链延伸三个步骤循环往复，在短时间内扩增得到大量 DNA 片段，扩增得到的目的产物3'末端含有一个A碱基，可直接用于T/A克隆。

反应条件：

反转录：50℃ 20 分钟；

变 性：95℃ 3 分钟；

变 性：95℃ 10~20 秒；

退 火：56-64℃ 10~30 秒；

延 伸：72℃ 10~60 秒。

保 温：72℃ 5min

} 35~50 个循环

RT PCR 反应体系配制：

试剂	25μl 体系	50μl 体系	终浓度
25×One Step RTase mix	1	2	1×
5×One Step RT Premix Buffer	5	10	1×
Primer 1 (10μM)	0.5-2.5μl	1-5μl	0.2~1.0μM
Primer 2 (10μM)	0.5-2.5μl	1-5μl	0.2~1.0μM
RNA	-	-	-
ddH ₂ O	-	-	-
Total volume	25μl	50μl	

1、通常引物终浓度为 0.2μM 可以得到较好结果。反应性能较差时，可以在 0.1~1.0μM 范围内调整引物浓度；

2、不同种类的模板中含有的靶基因的拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释，确定最佳的模板添加量。

产物检测：

反应结束后取 5 μ l 反应产物，加入适量上样缓冲液后进行电泳检测结果。

质量控制：

- 1、功能检测：RT PCR 的敏感性、特异性、可重复性；
- 2、无外源核酸酶活性，无外源内切、外切核酸酶污染。

技术说明：

- 1、该体系常用 50 $^{\circ}$ C 进行反转录反应，可以在 45 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C 范围内进行反转录温度优化；根据反应特征不同，可以在 10~30 分钟内对反转录时间进行优化；
- 2、该体系所用的反转录酶是在 MMLV 基础上进行了基因改造，去除了 RNaseH 活性，使其具有更高的温度耐受性和反转录温度，对 RNA 复杂结构模板具有更高的反转录效率；
- 3、该体系具有更好的体系稳定性和适用性，非常适合于病毒、组织等样本提取 RNA 复杂模板的检测。