

版本号：FPI1914

## FineScript II One Step RT-PCR Kit

目录号：FP503

### 产品内容：

产品组成	FP503-02 50 µl× 50 rxn
One Step RT-PCR MasterMix	1140 µl
RT-PCR Enzyme Mix	120 µl
阴性对照	1000 µl

### 储存条件：

请将该试剂盒置于-20℃保存。

### 产品特点：

反应效率高：性能优良的逆转录酶和抗体修饰的热启动 Taq 酶保证了极高的反应效率；

操作简单快速：双组分的产品形式使得操作过程变得简单快速；

样品普适性好：对不同物种来源及杂质较多的 RNA 模板的适用性高。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介：

本试剂盒采用一步法使 RT 和 PCR 在同一反应体系中进行,反应过程中不需要添加试剂,无需打开管盖,避免了样品间交叉污染的同时也提高了检测的灵敏度。

本试剂盒中的 RT-PCR Enzyme Mix 为 GENFINE 反转录酶 FineScript II RTase 和 FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase,精心优化并配制成 RT-PCR 酶混合液,保证了 Real Time One Step RT-PCR 能稳定、高效的进行。FineScript II RTase 是一种由工程菌进行重组表达的全新高效逆转录酶,具有与 RNA 高亲和性的特点,其能通读 GC 含量高、二级结构复杂的 RNA 模板,而 FineAmp HotStart Taq DNA Polymerase 是 GENFINE Taq DNA Polymerase 和其单克隆抗体的混合制品,适用于 HotStart PCR 实验。在 PCR 反应高温加热前,Taq 单克隆抗体会与 Taq 酶结合,抑制其聚合酶活性。本产品中高亲和力抗体可以保证在常温条件下完全屏蔽 Taq 酶活性,使整个反应体系具有很高的特异性。另外,本产品中的 Taq DNA Polymerase 具有较高的模板亲和力,可以提高扩增的效率以及特异性。试剂盒以便捷的 Master Mix 形式提供。qRT-PCR 反应液包含优化的缓冲体系和 dNTP mix,适用于 TaqMan 等荧光标记探针的高特异性检测系统。

## 注意事项：

1. RNA 模板可以采用总 RNA 或 mRNA,建议使用 GENFINE 公司生产的 TRIzol 或 FinePure RNA 提取系列制备高质量的总 RNA。
2. 一步法 RT-PCR 实验应避免 RNase 污染,可采用以下措施:
  - 1) 因人的皮肤表面和唾液都有 RNase,因此实验中应佩戴一次性手套和口罩;
  - 2) 一步法 RT-PCR 实验应使用专门的仪器和耗材,建议在专门区域操作 RNA;
  - 3) 一步法 RT-PCR 实验相关耗材应用 0.1% DEPC(焦碳酸二乙酯)水溶液在 37°C 处理 12 h,并高压灭菌 30 min 后使用。
3. RT-PCR Enzyme Mix 在取用之前应短暂离心收集溶液后再吸取,吸取时动作要慢,使用后应尽快放回-20°C。
4. One Step RT-PCR Master Mix 在取用前应充分混匀并离心后使用。
5. 本试剂盒必须使用特异性引物,引物的选择可根据具体实验来选择。

## 操作步骤:

### 1. RT-PCR 扩增反应:

组成成分	单人份用量
One Step RT-PCR Master Mix	38 $\mu$ l
RT-PCR Enzyme Mix	2 $\mu$ l
RT-PCR 引物	5 $\mu$ l
模板	5 $\mu$ l
总量	50 $\mu$ l

试剂全部加好后, 混匀后瞬时离心, 将所有试剂收集到管底。

RT-PCR 引物配制 (建议):

引物母液	直扩 RT-PCR 引物	单人份用量
	mix 中终浓度	
Primer F (40 pmol/ $\mu$ l)	4 pmol/ $\mu$ l	5 $\mu$ l
Primer R (40 pmol/ $\mu$ l)	4 pmol/ $\mu$ l	

### 2. RT-PCR 反应条件:

按下表进行 qRT-PCR 程序设置:

步骤	温度	时间	循环数
1	50 °C	30 min	1 cycle
2	95 °C	3 min	1 cycle
3	94 °C	10 sec	35-40 cycles
	60 °C	30 sec	
4	72 °C	5 min	1 cycle

根据引物设计确定退火温度。

## 结果检测:

将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测分析。