

Basic RT Isothermal Amplification Kit (Lyophilized)

REF: EG23104S

储运条件

2~8℃保存，常温运输，严格防潮，不可剧烈振荡。

产品组成

组分	规格
Lyophilized Basic RT Iso-amplification Mix (25 µl/rxn)	48 rxns
Mg(OAc) ₂ (280 mM)	200 µl

产品简介

本品是通过液氮点液冻干技术制备的即用型逆转录-恒温扩增试剂盒，含有除引物和模板外的所有组分。用户仅需加入 RNA 模板、引物、Mg²⁺ 和水，即可在 37~42℃恒温下快速完成 RNA 逆转录与 cDNA 扩增。

质量控制

核酸内切酶活性

将 1 颗 Lyophilized Basic RT Iso-amplification Mix 溶于 25 µl ddH₂O，再与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37℃ 共同温育 4 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

RNase 活性

将 1 颗 Lyophilized Basic RT Iso-amplification Mix 溶于 25 µl ddH₂O，再与 500 ng 总 RNA 在 37℃ 温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

使用方法

1. 按下表配制反应体系：

试剂	使用量	终浓度
Lyophilized Basic RT Iso-amplification Mix (25 μ l/rxn)	1 颗	
RNA 模板	5 μ l	
正向引物 (10 μ M) ^a	1 μ l	0.4 μ M
反向引物 (10 μ M) ^a	1 μ l	0.4 μ M
ddH ₂ O	To 23.7 μ l	

a. 引物长度建议为 30~35 nt，内部尽量避免二级结构和连续单碱基重复序列，引物 Tm 不作考虑。扩增目标片段长度建议为 200~500 bp。

- 待微球完全溶解后，在反应管盖上滴加 1.3 μ l Mg(OAc)₂ (280 mM)。小心盖紧管盖，上下颠倒 5 次，瞬时离心收集至管底。
- 迅速将反应管放入预热好的恒温设备中，在 37~42℃（建议 40℃）下恒温反应 20~30 min。
- 反应结束将产物纯化，然后使用琼脂糖凝胶电泳检测。

注意事项

- 扩增产物的气溶胶易造成假阳性，为避免交叉污染，建议有条件的用户在基因扩增实验室内操作，加样与扩增在不同区域进行。
- 实验时应设置不加模板的空白对照（建议使用开盖无菌水），以确认是否有待扩增核酸的污染。
- 反应体系中包含大量 DNA 结合蛋白，产物直接电泳会出现严重拖带，建议将产物纯化后再进行电泳检测。