

TOROIVD® One Step RT-PCR Kit (Dye Plus)

【产品货号】 KRT-200P

【包装规格】 50μL反应体系40次

【产品描述】

TOROIVD® One Step RT-PCR Kit (Dye Plus)是 TOROIVD 开发的一款高灵敏高特异一步法 RT-PCR 试剂盒。本试剂以 RNA 为模板，逆转录及 PCR 反应在同一个管进行，反应液中含有电泳上样指示剂，产物可直接进行电泳。既降低了样本间交叉污染，又提高了检测通量。

本试剂盒采用定向进化的高灵敏、高延伸能力 TOROIVD® III 逆转录酶以及具 Taq 酶 80 倍以上保真度的热启动 KOD 酶，可高特异地扩增极低拷贝的 RNA 模板。

【产品特征】

- 高灵敏度**: 可有效扩增低至 1fg 的 3kb 以下 RNA 模板。
- 高特异性**: 高温逆转录及热启动技术有效抑制错配和引物二聚体造成非特异性扩增。
- 高保真度**: 使用具校正活性的高保真 KOD 酶，产物适合克隆或测序监控 RNA 变异。
- 使用简便**: 一管内即可同时进行逆转录及 PCR，实现一步法 RT-PCR。

【产品组成】

TOROIVD® One Step RT-PCR Kit (Dye Plus) (KRT-200P) 采用 50μL 反应体系可使用 40 次；

货号	组分	包装
KRT-200P	TOROIVD® RT Enzyme Mix	100μL/管×1
	2×TOROBlue® Flash KOD Dye Mix	1mL/管×1
	DNase/RNase-Free Water	1mL/管×1

【使用方法】

1. 将试剂完全融化后振荡混匀，离心 6000rpm，10 秒。按如下体系配制：

组分	50μL 反应体积 添加量
2×TOROBlue® Flash KOD Dye Mix	25μL
TOROIVD® RT Enzyme Mix	2.5μL
10μM 上游引物	1.5μL
10μM 下游引物	1.5μL
总RNA模板	1fg~1μg
DNase/RNase-Free Water	补足到50μL

注: -防止 RNase 污染，请佩戴干净手套及口罩，离心管、枪头等需 RNase-free 级别，保持操作台干净。

-请尽量使用长度在 22~35 个碱基 (Tm 值 > 63°C) 的引物，GC 含量在 45~60%。Tm-5°C 超过 68°C 时，请按 68°C 设定。

-须使用基因特异性的反转录引物，随机引物及 Oligo dT 引物不能使用。

2. 将混合完成的体系涡旋振荡，离心混匀后按照下述反应条件进行 RT-PCR：

两步法 PCR 循环条件：

步骤	条件	循环数
逆转录	52°C, 30min	1
变性	98°C, 10sec.	40
延伸	68°C, 15 sec./ kb	

三步法 PCR 循环条件:

步骤	条件	循环数
逆转录	52°C, 30min	1
变性	98°C, 10sec.	40
退火	(Tm - 5)°C, 5 sec.	
延伸	68°C, 15 sec./ kb	

注: - 无扩增产物或扩增产物较少时, 建议采用三步法循环条件, 同时可以降低退火温度, 退火温度设定为 (Tm-7~Tm-10) °C;

-出现弥散或非特异性条带时, 采用两步法循环; 若采用三步法循环时, 同时可提高退火温度。

-PCR 预混液中含有电泳上样指示剂, 产物可直接电泳。但需将核酸染料提前配置到琼脂糖胶里。

-PCR 酶为高保真酶, 扩增产物未平末端, 如果使用 TA 克隆时需要先在 PCR 产物末端添加 dA 尾。

【存储条件】

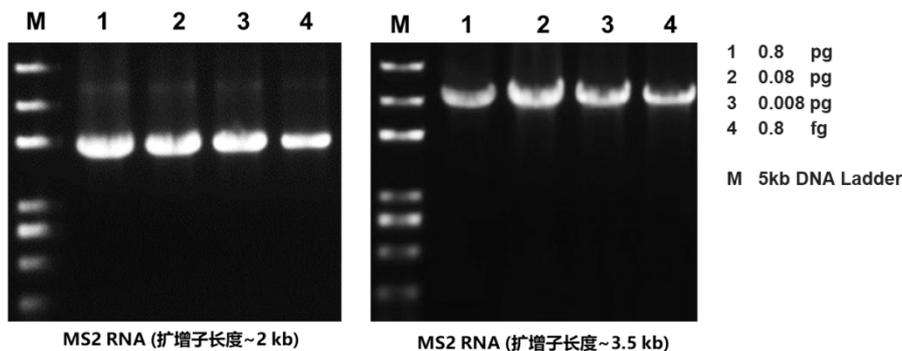
本试剂请在-20°C保存。

【应用实例】

使用不同浓度的 MS2 RNA 约 2 kb 及 3.5 kb 的扩增片段, 延伸时间按 15 sec./ kb 设定, 比较检测灵敏度。反应根据如下的条件进行。结果显示, 以 15 sec./ kb 的速度扩增时, TOROIVD® One Step RT-PCR Kit (Dye Plus) 可有效扩增低至 0.8fg 的 MS2 RNA 模板。

反应体系	
2×TOROBlue® Flash KOD Dye Mix	25μL
TOROIVD® RT Enzyme Mix	2.5μL
10μM 引物 上下游分别添加	1.5μL
总 RNA 模板	9.5μL
DEPC 水	10μL
总体系	50μL

PCR 条件			
步骤	条件		循环数
逆转录	52°C	30 min	1
变性	98°C	10 sec.	40
退火	58°C	5 sec.	
延伸	68°C	30 sec.	



KRT-200实验例_不同模板量的检测灵敏度比较

【联系信息】



天罗诊断科技江苏有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

总部地址: 上海宝山区江杨南路 880 号新杨湾科创园 C1 栋

生产地址: 江苏如东珠江路 888 号生命健康产业园 20 号楼

邮箱: market@toroivd.com

网址: www.toroivd.cn