

## QIAGEN® OneStep Ahead RT-PCR Kit

QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit 可对任意 RNA 模板进行便利、高灵敏度、特异性的 RT-PCR。该试剂盒含有经优化的组分，使得逆转录和 PCR 扩增可在同一混合液中“一步”完成。

### QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit 包含：

- 具有独特的两阶段热启动特性，确保可在室温条件下进行反应体系的构建
- 专有设计的酶混合液可显著提高反应特异性、灵敏度和保真性
- 时间更短的 1 小时快速热循环程序
- 内置加样变色指示剂，减少移液错误
- 双重 PCR 扩增能力，可同时扩增内质控或内参基因

QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit 中含有 Sensiscript 和 Omniscript 两种不同的逆转录酶，以及平衡配比的 Taq DNA 聚合酶和具有校对功能的高保真酶。热启动酶使得反应体系构建得以在室温条件下进行，便利的单管操作和优化的反应体系确保实验获得高灵敏度结果。

### 便利性

QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit 能够进行便利、快速的 RT-PCR 反应，适用于多种应用，包括病毒检测、分子诊断研究、以及基因表达分析。只需将逆转录酶混合液、引物和模板加入到预混液中，即可开始热循环。

### OneStep Ahead RT-PCR 操作流程

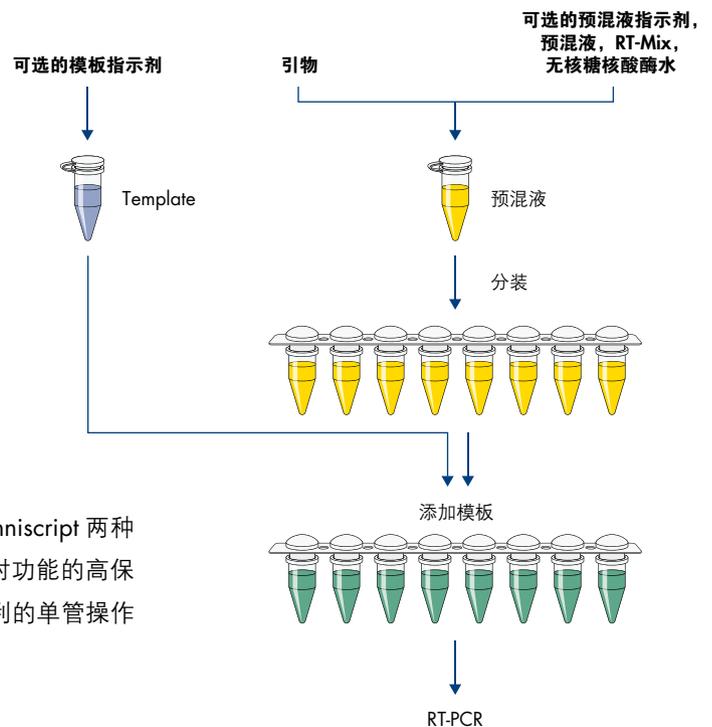


图 1. OneStep Ahead RT-PCR Kit 操作流程。

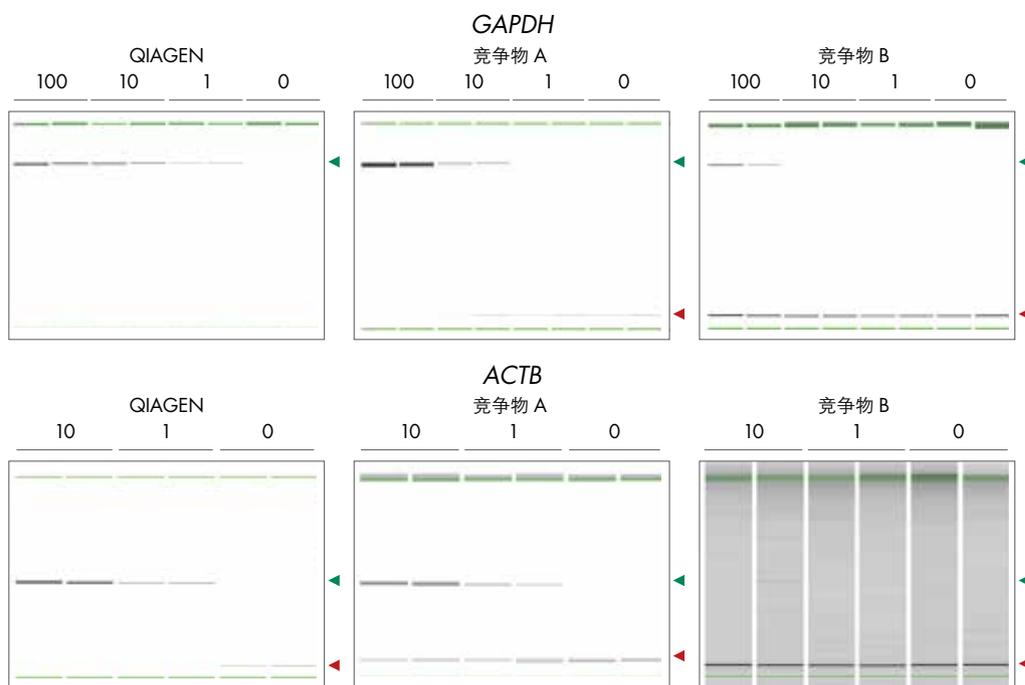


反应体系构建可以在室温条件下进行，可选择性加入预混液和模板变色指示剂，以避免在移液过程中可能发生的错误。反应混合液中含有逆转录和 PCR 扩增反应所需的全部试剂。（操作流程的示意性说明见图 1）。

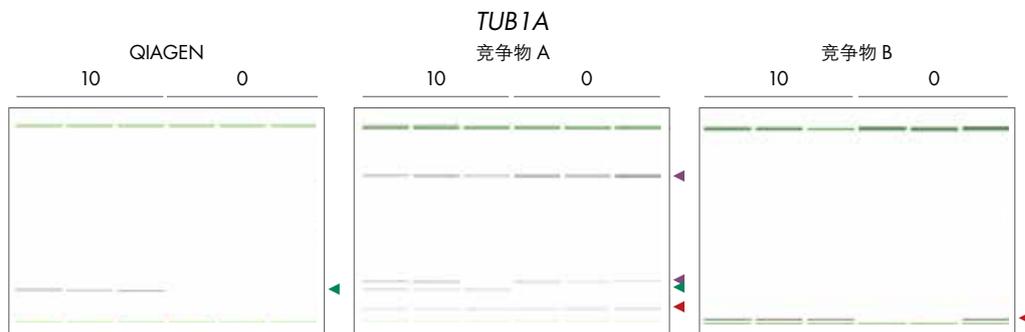
## 性能

QIAGEN OneStep *Ahead* RT-PCR Kit 可对任意 RNA 模板进行便利、高灵敏度、特异性的 RT-PCR。该试剂盒含有经优化的组分，使得逆转录和 PCR 扩增可在同一混合液中“一步”完成。独特的酶配比和专门的反应缓冲液确保了高效、特异性的逆转录反应和 PCR 反应在同一反应管中有序进行，无需额外的优化步骤（见图 2 和图 3）。

**图 2. 卓越的灵敏度。**将图示量的 HeLa 总 RNA（单位为 pg）作为模板，扩增 GAPDH（831 bp）和 ACTB（295 bp），反应平行进行两次。绿色箭头表示特异性产物，红色箭头为引物二聚体。后续分析在 QIAxcel 上进行。



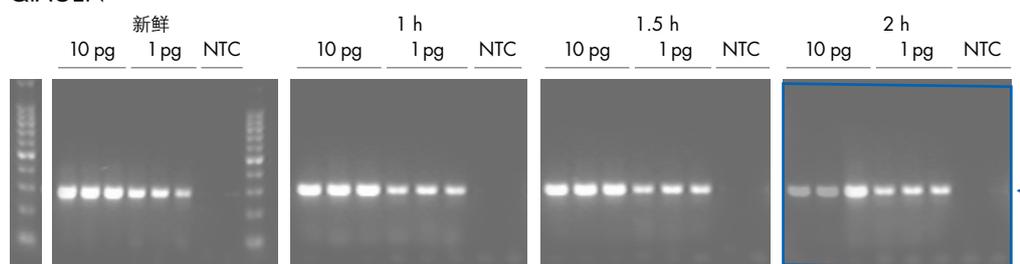
**图 3. 卓越的特异性。**将图示量的 HeLa 总 RNA（单位为 ng）作为模板，扩增 EIF2B4（107 bp），反应平行进行三次。绿色箭头表示特定产物，红色箭头表示引物二聚体，紫色箭头则表示非特异性扩增产物。后续分析在 QIAxcel 上进行。



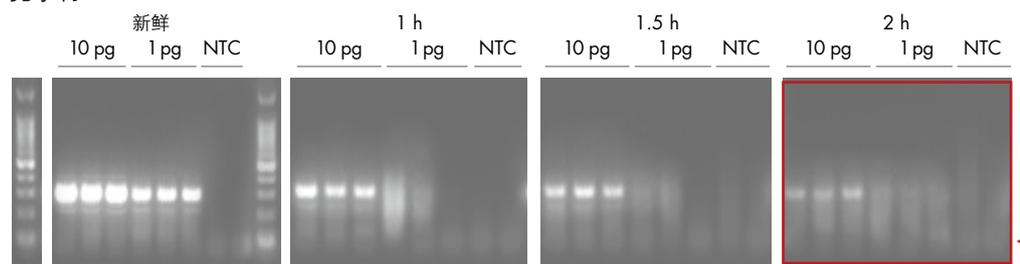
在逆转录步骤, Omniscript 和 Sensiscript 逆转录酶上结合有逆转录阻断基团, 使其处于非激活状态, 不会在室温条件下生成非特异的逆转录产物。当温度升高至 50°C 时, 阻断基团从逆转录酶上解离, 逆转录酶迅速达到完全激活状态。

PCR 扩增步骤受三种经平衡配比的 DNA 聚合酶催化。在室温下, QuantiNova DNA Polymerase 的酶活性处于抗体介导的阻断状态。它在 95°C 孵育 5 分钟后即可恢复活性, 在第一个热循环即可实现高度特异性的扩增。HotStarTaq DNA Polymerase 的酶活性逐渐提高, 确保 PCR 的高产量。具有校对功能的高保真 DNA 聚合酶具有 3' → 5' 外切酶活性, 同样是 95°C 孵育 5 分钟活化, 确保扩增的高度准确性和持续合成能力。预混液中含有新型双阳离子 PCR 缓冲液, 确保在宽泛的退火温度范围内, 都可生成高特异性 PCR 产物。RT-PCR 反应还采用了 Q-Solution, 这一组分有助于对高 GC 或含有复杂二级结构的模板进行高效的逆转录和扩增。

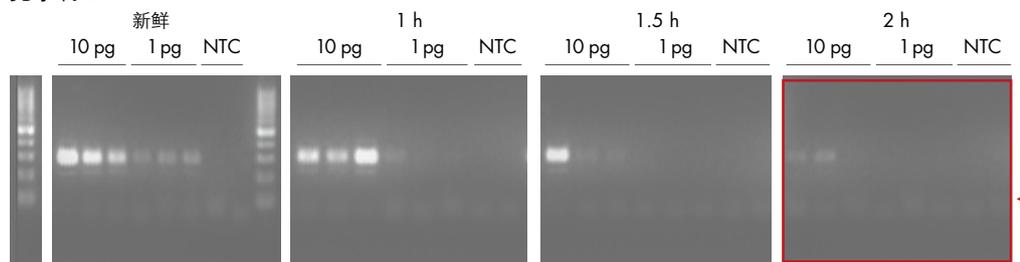
#### QIAGEN



#### 竞争物 A



#### 竞争物 B



**图 4. 室温下的反应体系构建。**可在 PCR 前方便地构建反应体系并放置在室温保存, 实现了本试剂盒在自动化工作流程中的应用。将图示量的 HeLa 总 RNA (10 和 1 pg) 作为模板, 反应体系的配置在冰上完成 (“新鲜”) 或置于室温下不同时长后扩增 ACTB, 反应平行进行三次, 用 2% 凝胶电泳分析结果。

室温下进行反应体系构建这一特点，使该试剂盒可便利的用于自动化体系构建流程中。预混液含有反应所需缓冲液、dNTP 和 DNA 聚合酶。而含有逆转录酶和 RNase 抑制剂的 RT-Mix 则单独包装，确保逆转录反应不会提前进行。在进行反应体系构建时，仅需将引物、模板 RNA 和 RT-Mix 加入预混液中。

**该试剂盒中含有加样指示剂，能有效防止移液错误的发生，确保结果的可靠。**

显色体系由预混液指示剂和模板指示剂两部分组成，通过颜色变化即可轻松判断反应体系中是否加入模板，减少反应构建时的失误（见图 5）。该试剂盒还经专门优化，可适用于双重 PCR，能够在单一反应体系中同时扩增阳性内质控。试剂盒中含有的 RNase 抑制剂能够防止因 RNase 污染而导致的 RNA 降解。



**图 5. 可选的加样变色指示剂。**该试剂盒提供了一种特殊的加样变色指示剂。预混液变色指示剂为橙色的惰性染料，可加入预混液中。模板变色指示剂为蓝色的惰性染料，可加入模板中。将模板加入预混液后，反应体系颜色将会由橙色变为绿色，从而可便利的观察移液的进展情况。此外，这两种染料都可在凝胶电泳时作为示踪染料。在 1% 的琼脂糖凝胶上，橙色染料可指示 50 bp 条带的位置，而蓝色为 4000 bp。

## 订购信息

产品	规格	货号
QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit ( 50 )	6 小瓶，可用于 50 次反应：1 x 500 µl OneStep Ahead RT-PCR 预混液，1 x 50 µl OneStep Ahead RT Mix，1 x 200 µl 模板指示剂，1 x 50 µl 预混液指示剂，1 x 1.9 ml 水，1 x 400 µl Q-Solution	220211
QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit ( 200 )	8 小瓶，可用于 200 次反应：2 x 1 ml OneStep Ahead RT-PCR 预混液，1 x 200 µl OneStep Ahead RT Mix，1 x 200 µl 模板指示剂，1 x 50 µl 预混液指示剂，2 x 1.9 ml 水，1 x 2 ml Q-Solution	220213
QIAGEN OneStep Ahead RT-PCR Kit ( 2000 )	75 小瓶，可用于 2000 x 25 µl 次反应：20 x 1 ml OneStep Ahead RT-PCR 预混液，10 x 200 µl OneStep Ahead RT Mix，10 x 200 µl 模板指示剂，10 x 50 µl 预混液指示剂，20 x 1.9 ml 水，5 x 2 ml Q-Solution	220216

关于最新的许可信息和产品特定的免责声明，请阅读相关的 QIAGEN 试剂盒手册或操作指南。QIAGEN 试剂盒手册和操作指南可在 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 上下载，或向 QIAGEN 技术服务或当地的经销商索取。

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight® (QIAGEN Group).  
© 2016 QIAGEN, all rights reserved.

凯杰企业管理（上海）有限公司

电话：021-3865 3865 ■ 技术支持热线：800-988-0325 400-880-0325

TechService-CN@qiagen.com ■ [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)



LS201603006