

Code No. 3732

研究用

---

**Takara**

CellAmp™ Direct RNA Prep Kit  
for RT-PCR (Real Time)

---

说明书

# 目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 试剂盒外必备主要试剂	1
● 使用注意	1
● 操作方法	2
● 附 录	3
● 实验例	9
● Troubleshooting	10
● 关联产品	10

## ● 制品说明

本制品是从 96 孔板或其他各种培养板中培养的动物细胞中提取 One Step 或 Two Step Real Time RT-PCR (又称 qRT-PCR 或 RT-qPCR) 反应用的 RNA 模板的试剂盒。本试剂盒由三种溶液组成, 快捷方便, 操作简单, 可在 10 分钟内完成从培养细胞中制备品质良好的 RNA 模板。

使用本试剂盒制备的 RNA 模板可与 One Step TB Green<sup>®</sup> PrimeScript™ RT-PCR Kit (Code No. RR066A/B) 等 One Step Real Time RT-PCR 试剂组合使用, 2 小时内便可完成基因表达分析。本试剂盒与反转录试剂 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time) 组合使用, 可在 30 分钟内制备出用于 Real Time PCR (qPCR) 的 cDNA 模板。

本试剂盒可以从微量的细胞中提取 RNA 模板, 并用于基因解析和 Real Time RT-PCR 的高灵敏度检出。在对无法设计跨内含子引物的基因或低表达量的基因进行分析时, 基因组 DNA 的混入对实验结果影响很大。本试剂盒可以有效去除基因组 DNA, 大大提高了实验结果的准确性。

## ● 制品内容 (200 次量) \*

CellAmp Washing Buffer	12.5 ml × 2
CellAmp Processing Buffer	10 ml
DNase I for Direct RNA Prep	200 μl

\*使用 96 孔板时, 200 孔培养细胞的反应次数。

## ● 保存: -20°C。

CellAmp Washing Buffer 及 CellAmp Processing Buffer 融解后也可以在 4°C 保存。  
请注意避免污染。

## ● 试剂盒外必备主要试剂

Real Time RT-PCR kit (表 1)

Proteinase K (Code No. 9034) (用于可选的 Proteinase K 操作方法)。

## ● 使用注意

### 1. 本试剂盒应与表 1 中所列产品组合使用

表 1 可组合使用的 Real Time RT-PCR 产品

#### One-step Real Time RT-PCR

Code No.	产品名称
RR086A/B	One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit II (Perfect Real Time)
RR066A/B	One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit (Perfect Real Time)
RR064A/B	One Step PrimeScript RT-PCR Kit (Perfect Real Time)
RR096A/B	One Step TB Green PrimeScript PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

#### Two-step Real Time RT-PCR

Code No.	产品名称
RR037A/B	PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)
RR036A/B	PrimeScript RT Master Mix (Perfect Real Time)
RR820A/B	TB Green <i>Premix Ex Taq</i> <sup>™</sup> II (Tli RNaseH Plus)
RR420A/B	TB Green <i>Premix Ex Taq</i> <sup>™</sup> (Tli RNaseH Plus)
RR091A/B	TB Green Premix DimerEraser <sup>™</sup> (Perfect Real Time)
RR390A/B	<i>Premix Ex Taq</i> <sup>™</sup> (Probe qPCR)

2. 如果 CellAmp Washing Buffer 和 CellAmp Processing Buffer 在融化过程中有析出物出现时, 请

于室温下将析出物完全溶解后使用。

3. 细胞裂解液的制备要迅速，不要停滞。
4. 分装试剂时要使用一次性枪头避免样品之间的污染。如果添加的试剂必须回收，则应更换枪头。不要使用同一个枪头吸取不同种溶液。
5. RNA 制备说明。
  - 1) 实验时应尽量使用无菌、RNase-free 的一次性塑料器皿。如果使用的塑料器皿不能确定是否为 RNase-free，则应在使用前进行灭菌处理。如使用玻璃器皿或者刮勺，则需 160°C 干热灭菌至少 2 小时，或者用 0.1% 的 DEPC 水在 37°C 处理 12 小时，然后高压灭菌。
  - 2) RNA 实验用的器具和仪器建议专门使用，不要用于其它实验。
  - 3) 实验使用的试剂，应尽量使用 0.1% DEPC 处理水进行配制，并在使用前进行灭菌。如果所用试剂不能灭菌，可以使用无菌的容器以及无菌水进行配制，并在使用前过滤除菌。
  - 4) 样品制备的过程中还需要其他的防污染措施，包括使用无菌的一次性手套以及口罩等，防止汗水及唾液造成的污染。

## ● 操作方法

### 1. 溶液的配制

按下列组分在冰上配制细胞 Processing 溶液。

试 剂	每孔用量 (96 孔板)
CellAmp Processing Buffer	49 $\mu$ l
DNase I for Direct RNA Prep	1 $\mu$ l
Total	50 $\mu$ l

**注意：**使用其它类型板时请参照“附录 3。”。

### 2. 96 孔板贴壁细胞裂解液的制备

注：若使用其它类型培养板，则需参考“附录 3”所建议使用的细胞、孔板以及试剂的体积。

- 1) 向 96 孔板每个孔中接种约  $1 \times 10^4$  个细胞。
- 2) 根据实验要求培养适量的细胞数或培养至细胞汇聚。
- 3) 用枪头尽量除尽培养基。
- 4) 向各孔中添加 125  $\mu$ l 的 CellAmp Washing Buffer，再用枪头尽量吸尽 CellAmp Washing Buffer。
- 5) 向各孔中添加 50  $\mu$ l 上述配置好的细胞 Processing 溶液，室温（15–28°C 左右）放置 5 分钟。
- 6) 用枪头将各孔的细胞 Processing 溶液反复吸打后，转移至适当容量的微量离心管中，75°C 温育 5 分钟。
- 7) 使用上述操作得到的细胞裂解液作为模板进行 Real Time RT-PCR 反应。
  - ① 操作方法参见“附录 1.”（一步法）或“附录 2.”（两步法）。
  - ② 如果进行 25  $\mu$ l 体系的一步法 Real Time RT-PCR 反应或者 10  $\mu$ l 体系的反转录反应，裂解液的用量应低于 2  $\mu$ l。
  - ③ 裂解液的制备应于冰上操作，Real Time RT-PCR 反应应在裂解液制备的 1 小时内进行。裂解液可于 -80°C 保存 2 周。

### 3. 低于 $1 \times 10^4$ 悬浮细胞裂解液的制备

**注意：**如果用于制备细胞裂解液的起始细胞数高于  $1 \times 10^4$ ，可按比例增加试剂用量。

- 1) 计算细胞数，将低于  $1 \times 10^4$  细胞的培养液转移到适当容量的离心管中。
- 2) 300g 离心 5 分钟。
- 3) 用枪头尽量除尽培养基。

- 4) 向离心管中添加 125  $\mu\text{l}$  的 CellAmp Washing Buffer。
- 5) 300g 离心 5 分钟。
- 6) 尽量除尽 CellAmp Washing Buffer。
- 7) 加入 50  $\mu\text{l}$  上述配置好的细胞 Processing 溶液，室温（15–28°C 左右）放置 5 分钟。
- 8) 用枪头将各孔的细胞 Processing 溶液反复吸打后，转移至适当容量的微量离心管中，75°C 温育 5 分钟。
- 9) 使用上述操作得到的细胞裂解液为模板进行 Real Time RT-PCR 反应。
  - ① 操作方法参见“附录.1”（一步法）或“附录.2”（两步法）。
  - ② 如果进行 25  $\mu\text{l}$  体系的一步法 Real Time RT-PCR 反应或者 10  $\mu\text{l}$  体系的反转录反应，裂解液的用量应低于 2  $\mu\text{l}$ 。
  - ③ 裂解液的制备应于冰上操作，Real Time RT-PCR 反应应在裂解液制备的 1 小时内开始。裂解液可于 -80°C 保存 2 周。

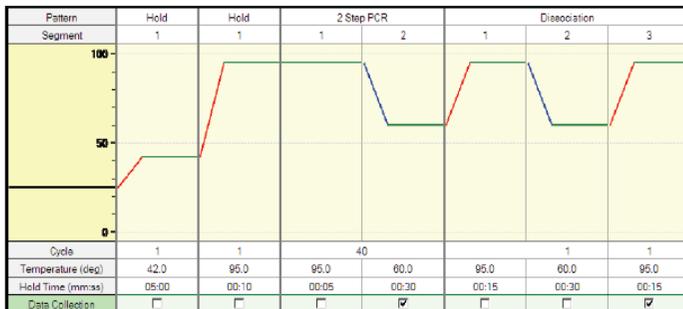
## ● 附录

### 1. 使用 One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) 在 Thermal Cycler Dice Real Time System // (终卖) 中进行一步法 Real Time RT-PCR 反应的实验例

- 1) 在冰上将 1~2  $\mu\text{l}$  的细胞裂解液分装到反应管或 96 孔板中。
- 2) 按下列组分在冰上配制 Master Mix。
  - \*: 表中所示体积为每次反应用量。
  - \*: 多数情况下，Primer 的终浓度可以为 0.4  $\mu\text{M}$ 。如果 Primer 的终浓度为 0.4  $\mu\text{M}$  不能获得良好的实验结果时，请在 0.2~1.0  $\mu\text{M}$  范围内研讨 Primer 的最适浓度。

试剂	使用量	终浓度
2X One Step TB Green RT-PCR Buffer 4	12.5 $\mu\text{l}$	1X
PrimeScript 1 Step Enzyme Mix 2	1 $\mu\text{l}$	
PCR Forward Primer (10 $\mu\text{M}$ )	1 $\mu\text{l}$	0.4 $\mu\text{M}$
PCR Reverse Primer (10 $\mu\text{M}$ )	1 $\mu\text{l}$	0.4 $\mu\text{M}$
RNase Free dH <sub>2</sub> O	7.5~8.5 $\mu\text{l}$	
Total	23~24 $\mu\text{l}$	

- 3) 向分装了细胞裂解液的反应管或 96 孔板反应孔中添加 23~24  $\mu\text{l}$  的 Master Mix（总体积 25  $\mu\text{l}$ ），混匀，轻微离心后，放置于 Thermal Cycler Dice Real Time System // (终卖) 中开始反应。  
**注意：**使用 PrimeScript 1 step Enzyme Mix 时，需要在 PCR 反应之前 95°C 预变性 10 秒钟。热处理时间过长会降低酶的活性因而影响扩增效率和定量的准确性。



Pattern 1: 反转录反应

Hold

42°C 5 min

95°C 10 sec

Pattern 2: PCR 反应

Cycle 40

95°C 5 sec

60°C 30 sec

Pattern 3: Dissociation

### 4) 结果分析

反应结束后，确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线。

2. 使用 PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)和 TB Green *Premix Ex Taq II* (Tli RNaseH Plus)在 Thermal Cycler Dice Real Time System // (终卖)中进行 Two Step Real Time RT-PCR 反应的实验例。

A. 反转录反应: PrimeScript RT reagent Kit (Perfect Real Time)

1) 按下列组分在冰上配制反转录反应的 Master Mix。

\*: 表中所示体积为每次反应用量。

\*: 配制 master mix 的量要稍大于实际反应总量, 以防止移液器加样损失。分装完毕后, 向每个离心管中加入 RNA 样品。

试剂	使用量	终浓度
5X PrimeScript Buffer (for Real Time)	2 $\mu$ l	1X
PrimeScript RT Enzyme Mix I	0.5 $\mu$ l	
Oligo dT Primer (50 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	25 pmol
Random 6 mers (100 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ l	50 pmol
RNase Free dH <sub>2</sub> O	4.5~5.5 $\mu$ l	
Total	8~9 $\mu$ l	

**注意:** \*: Random 6 mers 和 Oligo dT Primer 同时使用, 可有效地将全长 mRNA 反转录成 cDNA。使用单引物进行反转录时, 使用量分别如下:

Random 6 mers (100  $\mu$ M)      0.5  $\mu$ l (50 pmol)

Oligo dT Primer (50  $\mu$ M)      0.5  $\mu$ l (25 pmol)

Specific Primer (2  $\mu$ M)      0.5  $\mu$ l (1 pmol)

\*: 反应体系可按需求相应放大。

2) 向反应管中分装反转录反应 Master Mix 8~9  $\mu$ l, 然后在每个反应管中添加 1~2  $\mu$ l 细胞裂解液 (总体积为 10  $\mu$ l), 混匀后离心, 进行反转录反应。反转录反应的条件如下:

37°C      15 min.      (反转录反应)

85°C      5 sec.      (反转录酶热失活)

4°C

**注意:** \*: 10  $\mu$ l 的反转录反应中应添加 2  $\mu$ l 以下的细胞裂解液。

\*: 使用 Gene Specific Primer 时, 反转录反应条件请使用 42°C 15 分钟。如果 Real Time PCR 反应有非特异性产物生成时, 将反转录温度提高至 50°C 可能会提高 PCR 反应特异性。

\*: 反转录反应液在 Real Time PCR 反应体系中的添加量应低于总反应液量的 10%。

B. Real Time PCR 反应: TB Green *Premix Ex Taq II* (Tli RNaseH Plus)

1) 将 2  $\mu$ l 的反转录反应液分装到反应管或 96 孔板中, 冰上放置。

2) 按下列组分在冰上配制 Master Mix。

\*: 表中所示体积为每次反应用量。

\*: 多数情况下, Primer 的终浓度可以为 0.4  $\mu$ M。如果 Primer 的终浓度为 0.4  $\mu$ M 不能获得良好的实验结果时, 请在 0.2~1.0  $\mu$ M 范围内研讨 Primer 的最适浓度。

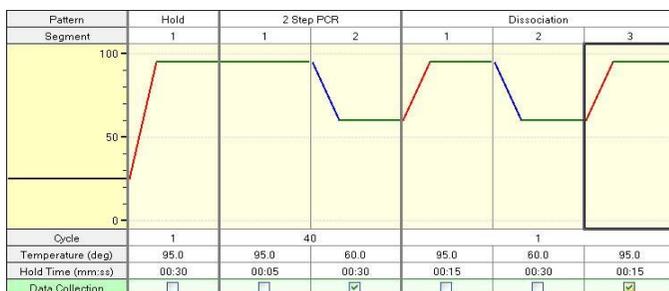
试剂	使用量	终浓度
TB Green <i>Premix Ex Taq II</i> (2X)	12.5 $\mu$ l	1X
PCR Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
PCR Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
灭菌水	8.5 $\mu$ l	
Total	23 $\mu$ l	

- 3) 向每份细胞裂解液中添加 Master Mix 后混匀, 经轻微离心后, 放置于 Thermal Cycler Dice Real Time System // (终卖) 中开始反应。

**注意:** \* 推荐的 PCR 反应 (Shuttle PCR 标准方法) 条件如下。请先按如下方法操作, 若有必要, 再进行 PCR 反应条件优化。在使用  $T_m$  值较低的 Primer 时, 如果两步法 PCR 反应效果不好, 可以尝试三步法 PCR。

\* 使用 TB Green *Premix Ex Taq II* 时, 需要在 PCR 反应之前 95°C 预变性 30 秒钟。热处理时间过长会降低酶的活性因而影响扩增效率和定量的准确性。

#### Shuttle PCR 标准方法



Hold (变性)

Cycle: 1

95°C 30 sec

2 step PCR

Cycle: 40

95°C 5 sec

60°C 30 sec

Dissociation

- 4) 结果分析

反应结束后, 确认 Real Time PCR 的扩增曲线和融解曲线。如果做定量分析还需建立标准曲线。

### 3. 不同培养板中贴壁细胞的接种量和各试剂的单孔使用量

培养板	96-Well	48-Well	24-Well	12-Well	6-Well
细胞的接种量基准 (cells/well)	$1 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$4 \times 10^4$	$8 \times 10^4$	$2 \times 10^5$
CellAmp Washing Buffer	125 $\mu$ l	250 $\mu$ l	500 $\mu$ l	1 ml	2.5 ml
CellAmp Processing Buffer	49 $\mu$ l	98 $\mu$ l	196 $\mu$ l	392 $\mu$ l	980 $\mu$ l
DNase I for Direct RNA Prep	1 $\mu$ l	2 $\mu$ l	4 $\mu$ l	8 $\mu$ l	20 $\mu$ l

**注意:** 以上推荐的基准值适用于一般培养条件下的普通贴壁细胞。有时需根据接种的细胞种类、数量、培养条件等对实验流程进行优化。

### 4. 使用 Proteinase K 的操作方法 (可选)

按照“操作方法 1~3”进行裂解液制备, 通常能够得到较好的重复性。但如果一次处理大量细胞样品, 发现 Ct 值偏差较大时, 按照本流程进行裂解液的制备会有所改善。

#### A. 试剂的制备 (96孔板)

**注意:** 如果使用其它类型反应板, 请参照“附录 4-D”。

- 1) 按下列组分在冰上配制细胞 Processing 溶液（使用 96 孔板时 5 个孔量）。

CellAmp Processing Buffer	199 $\mu$ l
Proteinase K (Code No. 9034)	1 $\mu$ l
Total	200 $\mu$ l

- 2) 在下列组分在冰上配制 DNase I 溶液（使用 96 孔板时 1 个孔量）。

CellAmp Processing Buffer	9 $\mu$ l
DNase I for Direct RNA Prep	1 $\mu$ l
Total	10 $\mu$ l

## B. 96 孔板贴壁细胞裂解液的制备

**注意：**如果使用其它类型反应板，请参照“附录.4-D”。

- 1) 向 96 孔板的各孔接种约  $1 \times 10^4$  的细胞。
- 2) 根据实验要求培养适量的细胞数或培养至细胞汇聚。
- 3) 用枪头尽量除尽培养基。
- 4) 向各孔中添加 125  $\mu$ l 的 CellAmp Washing Buffer。
- 5) 用枪头尽量除尽 CellAmp Washing Buffer。
- 6) 向各孔中添加 40  $\mu$ l 上述配置好的细胞 Processing 溶液，室温（15–28°C 左右）放置 5 分钟。
- 7) 用枪头将各孔的细胞 Processing 溶液反复吸打后，转移至适当容量的微量离心管中，75°C 温育 5 分钟。
- 8) 冰上冷却后，向各样品中添加 10  $\mu$ l 的 DNase 溶液，37°C 温育 5 分钟后，75°C 温育 5 分钟。（如果不进行 DNase 处理时，可直接进行下述 9 的操作。）
- 9) 使用上述操作得到的细胞裂解液为模板进行 Real Time RT-PCR 反应。
  - ① 操作方法参见“附录 1.”（一步法）或“附录 2.”（两步法）。
  - ② 如果进行 25  $\mu$ l 体系的一步法 Real Time RT-PCR 反应或者 10  $\mu$ l 体系的反转录反应，裂解液的用量应低于 2  $\mu$ l。
  - ③ 裂解液的制备应于冰上操作，Real Time RT-PCR 反应应在裂解液制备的 1 小时内进行。裂解液可于 -80°C 保存 2 周。

## C. 低于 $1 \times 10^4$ 悬浮细胞裂解液的制备

**注意：**如果用于制备细胞裂解液的起始细胞数高于  $1 \times 10^4$ ，可按比例增加试剂用量。

- 1) 计算细胞数，将低于  $1 \times 10^4$  细胞的培养液转移到适当容量的离心管中。
- 2) 300g 离心 5 分钟。
- 3) 用枪头尽量除尽培养基。
- 4) 向各离心管中添加 125  $\mu$ l 的 CellAmp Washing Buffer。
- 5) 300g 离心 5 分钟。
- 6) 尽量除尽 CellAmp Washing Buffer。
- 7) 加入 40  $\mu$ l 上述配置好的细胞 Processing 溶液，室温（15–28°C 左右）放置 5 分钟。
- 8) 用枪头将各孔的细胞 Processing 溶液反复吸打后，转移至适当容量的微量离心管中，75°C 温育 5 分钟。
- 9) 冰上冷却后，向各样品中添加 10  $\mu$ l 的 DNase 溶液，37°C 温育 5 分钟后，75°C 温育 5 分钟。（如果不进行 DNase 处理时，可直接进行下述 10 的操作。）
- 10) 使用上述操作得到的细胞裂解液为模板进行 Real Time RT-PCR 反应。

- ① 操作方法参见“附录 1.”（一步法）或“附录 2.”（两步法）。
- ② 如果进行 25  $\mu\text{l}$  体系的一步法 Real Time RT-PCR 反应或者 10  $\mu\text{l}$  体系的反转录反应裂解液的用量应低于 2  $\mu\text{l}$ 。
- ③ 裂解液的制备应于冰上操作，Real Time RT-PCR 反应应在裂解液制备的 1 小时内进行。裂解液可于 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存 2 周。

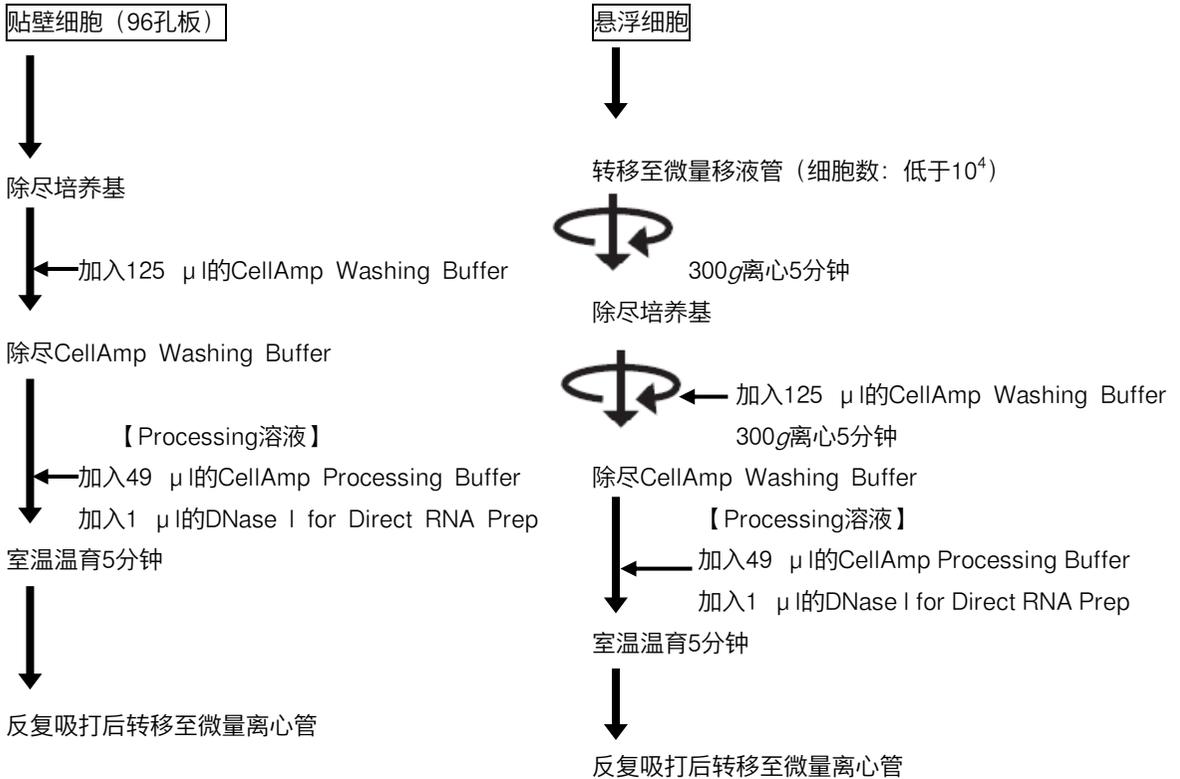
#### D. 不同培养板中贴壁细胞的接种量和各试剂的单孔使用量

Proteinase K 操作方法

培养板	96-Well	48-Well	24-Well	12-Well	6-Well
细胞的接种量基准 (cells/well)	$1 \times 10^4$	$2 \times 10^4$	$4 \times 10^4$	$8 \times 10^4$	$2 \times 10^5$
CellAmp Washing Buffer	125 $\mu\text{l}$	250 $\mu\text{l}$	500 $\mu\text{l}$	1 ml	2.5 ml
<b>【Processing 溶液】</b>					
CellAmp Processing Buffer	39.8 $\mu\text{l}$	79.6 $\mu\text{l}$	159.2 $\mu\text{l}$	318.4 $\mu\text{l}$	796 $\mu\text{l}$
Proteinase K(Code No. 9033)	0.2 $\mu\text{l}$	0.4 $\mu\text{l}$	0.8 $\mu\text{l}$	1.6 $\mu\text{l}$	4 $\mu\text{l}$
<b>【DNase 溶液】</b>					
CellAmp Processing Buffer	9 $\mu\text{l}$	18 $\mu\text{l}$	36 $\mu\text{l}$	72 $\mu\text{l}$	180 $\mu\text{l}$
DNase I for Direct RNA Prep	1 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	4 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	20 $\mu\text{l}$

**注意：**以上推荐的基准值适用于一般培养条件下的普通贴壁细胞。有时需根据接种的细胞种类、数量、培养条件等对实验流程进行优化。

#### CellAmp Direct RNA Prep Kit 操作流程



75°C温育 5 分钟

(见下页)

裂解液制备完成

**一步法 real time PCR**

向各孔或离心管中加入  
1-2 μl 细胞裂解液

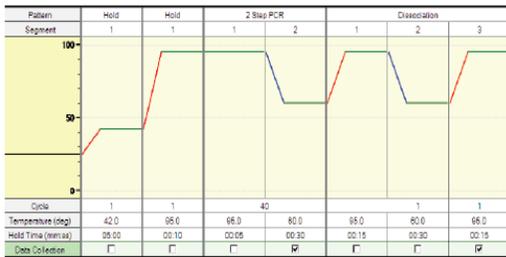
One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit II  
(Code No. RR086A/B)

【Master Mix】(单次反应用量)

RNase Free dH <sub>2</sub> O	7.5 - 8.5 μl
2X One Step TB Green RT-PCR Buffer 4	12.0 μl
PCR Forward Primer (10 μM)	1.0 μl
PCR Reverse Primer (10 μM)	1.0 μl
PrimeScript 1 step Enzyme Mix 2	1.0 μl



开始反应



Pattern 1: 反转录反应

Hold  
42°C 5 min

Pattern 2: PCR

Cycle: 40  
95°C 5 sec  
60°C 30 sec

Pattern 3: Dissociation

反应结束后进行分析

**两步法 real time PCR**

PrimeScript RT reagent Kit (Code No. RR037A/B)

【Master Mix】

RNase Free dH <sub>2</sub> O	4.5 - 5.5 μl
5X PrimeScript Buffer(for Real Time)	2.0 μl
Oligo dT Primer (50 μM)	0.5 μl
Random 6 mers (100 μM)	0.5 μl
PrimeScript RT Enzyme Mix	0.5 μl

向各孔或离心管中加入1-2 μl的细胞裂解液

37°C 15 min (反转录反应)

85°C 5 sec (酶失活处理)

4°C

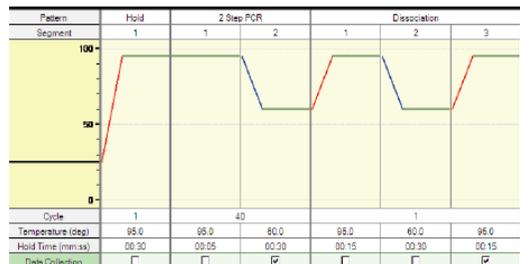
向各孔或离心管中加入 2 μl 的反转录反应混合液

TB Green *Premix Ex Taq* II (Code No. RR820A/B)

【Master Mix】(单次反应用量)

灭菌水	8.5 μl
PCR Forward Primer (10 μM)	1.0 μl
PCR Reverse Primer (10 μM)	1.0 μl
TB Green <i>Premix Ex Taq</i> II (2X)	12.5 μl
95°C	10 sec

开始反应



Pattern 1: (预变性)

Hold  
95°C 30 sec

Pattern 2: PCR

Cycle: 40  
95°C 5 sec  
60°C 30 sec

Pattern 3: Dissociation



反应结束后进行分析

## ● 实验例

### 基因表达图表分析

#### 1. 实验方法:

在 96 孔板中分别接种  $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^2$  cells/well 的 HeLa 细胞, 培养 48 小时后, 按照“操作方法”配制细胞裂解液。以各裂解液作为 One-Step 及 Two-Step Real Time RT-PCR 的模板, 对 6 种目的基因进行表达量分析。同时使用由 RNAiso Plus 精制得到的 Total RNA (100 ng) 做实验对照, 进行表达量分析对比。

#### 2. 实验结果。

使用 One Step 与 Two Step Real Time RT-PCR 对不同的细胞数的目的基因进行表达量分析, 均可得到与对照样品同样稳定的基因分析图表。

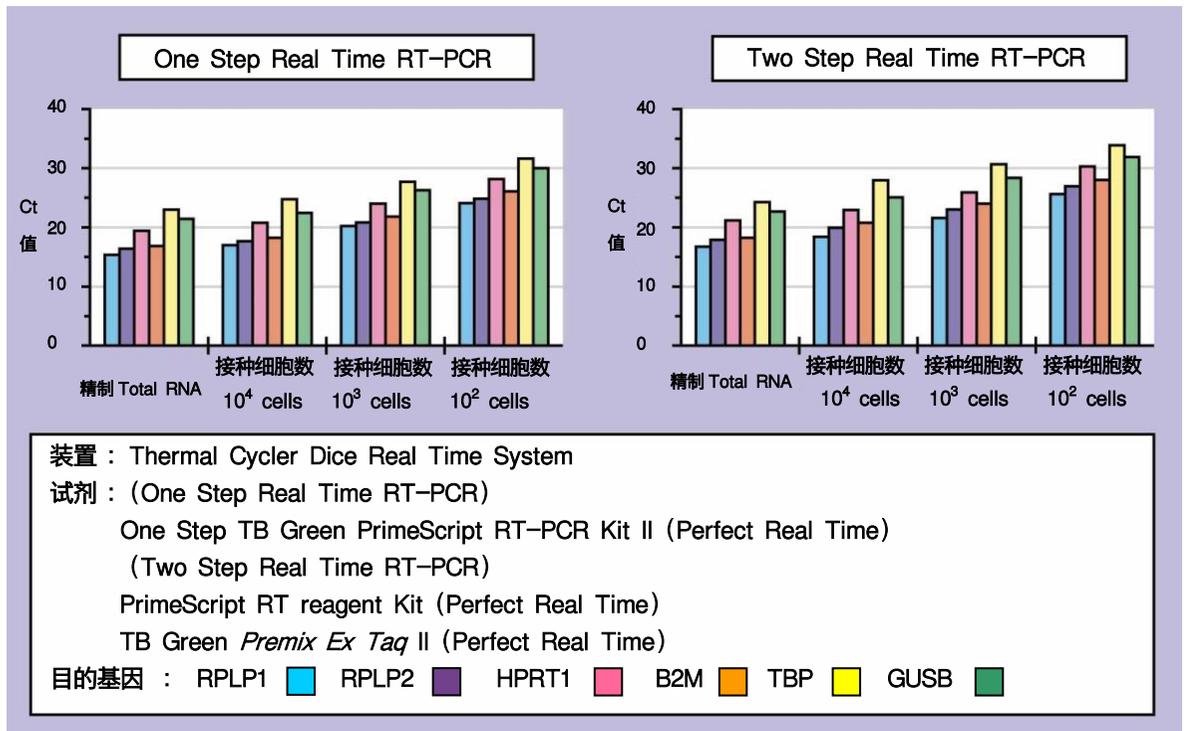


图 1 基因表达分析

## ● Troubleshooting

Real Time RT-PCR 无扩增产物。

1. 对 PCR Primer 的设计进行确认。参考 One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR066A/B) 或者 One Step TB Green PrimeScript RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) (Code No. RR086A/B) 的方法。
2. 根据使用细胞的种类以及培养条件，调整实验方法和细胞浓度等。
3. 使用 CellAmp Washing Buffer 对细胞进行洗净时，尽可能去除细胞中的杂质，清洗后尽可能除尽培养基及 CellAmp Washing Buffer。
4. Real Time PCR 反应液请于冰上配制，配制后到反应开始期间应在冰上避光保存。
5. One Step 与 Two Step Real Time RT-PCR 反应时，如果添加的细胞裂解液过量会降低反应效率。

## ● 关联产品

One Step TB Green<sup>®</sup> PrimeScript<sup>™</sup> RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR066A/B)

One Step TB Green<sup>®</sup> PrimeScript<sup>™</sup> RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) (Code No. RR086A/B)

One Step TB Green<sup>®</sup> PrimeScript<sup>™</sup> PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR096A/B)

One Step PrimeScript<sup>™</sup> RT-PCR Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR064A/B)

PrimeScript<sup>™</sup> RT reagent Kit (Perfect Real Time) (Code No. RR037A/B)

PrimeScript<sup>™</sup> RT Master Mix (Perfect Real Time) (Code No. RR036A/B)

TB Green<sup>®</sup> *Premix Ex Taq*<sup>™</sup> II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820A/B)

TB Green<sup>®</sup> *Premix Ex Taq*<sup>™</sup>(Tli RNaseH Plus) (Code No. RR420A/B)

TB Green<sup>®</sup> Premix DimerEraser<sup>™</sup> (Perfect Real Time) (Code No. RR091A/B)

*Premix Ex Taq*<sup>™</sup>(Probe qPCR) (Code No. RR390A/B)

Thermal Cycler Dice<sup>™</sup> Real Time System III (Code No. TP950/TP970/TP980/TP990)

TB Green is a registered trademark of Takara Bio Inc.

CellAmp, PrimeScript, *Premix Ex Taq*, DimerEraser, and Thermal Cycler Dice are trademarks of Takara Bio Inc.

### 注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站[www.takarabio.com](http://www.takarabio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用Takara产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

**技术咨询热线：**

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

**TAKARA BIO INC.**

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202203Da