

高性能反转录酶

PrimeScript系列

反转录的特点

	普通cDNA合成	高品质全长cDNA合成	Real Time RT-PCR 反转录kit
制品名称	PrimeScript™ Reverse Transcriptase	PrimeScript™ II Reverse Transcriptase	PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)
特点・用途	- 通过PrimeScript RTase的置换延伸活性可以合成背景很低的cDNA - 延伸性强 - 高级结构的RNA也可以使用	- 通过添加辅助蛋白质，有效抑制了非特异性的延伸反应，实现了低背景的cDNA合成 - 尤其适用于长链RNA起始的全长cDNA的合成	- 适合Real Time RT-PCR的反转录Kit - 反应时间15分钟
高品质cDNA合成	★★	★★★★	★★
对反应阻碍物的抗性	★★	★★★★	★★
延伸性 扩增链长	~13.5 kb	~13.5 kb	—
反应温度	42℃	42℃	37℃
42℃（37℃）反应，将对RNA模板的损害控制在最小程度，通过PrimeScript RTase的置换延伸活性，高级结构RNA及长链RNA起始也可以合成低背景的cDNA。			
反应时间	30~60分	30~60分	15分
页码	P. 1~2	P. 3~4	P. 5~6

※各酶不含有RNase H活性，不会阻碍mRNA起始cDNA的合成。



PrimeScript™ Reverse Transcriptase

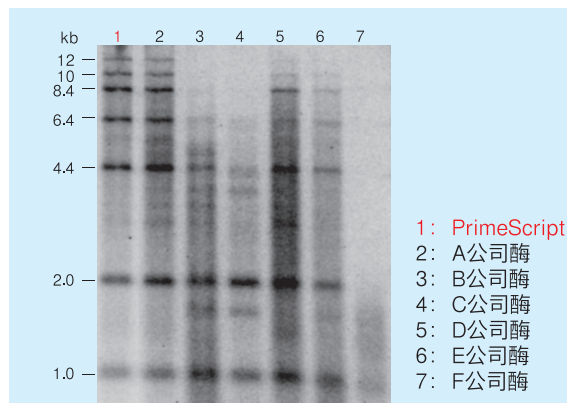
2680A	10,000 U
2680B	40,000 U
2680C	100,000 U

PrimeScript™ Reverse Transcriptase (RTase) 是Takara Bio在M-MLV来源的反转录酶的基础上特别开发的一种全新反转录酶。

该酶大大降低了cDNA合成的最大阻碍，即反转录酶本身对于RNA的非特异结合，同时提高了反转录引物的特异性。

通过以上两个特点与本酶具有的强置换延伸活性，在对RNA损伤很小的42℃条件下，对于结构复杂的RNA及长链RNA也能够合成低背景的cDNA。

◆ 可以合成高质量的cDNA

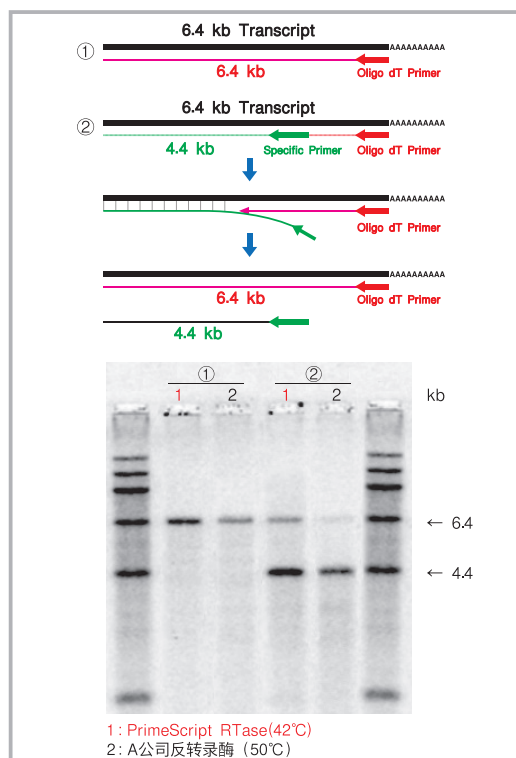


PrimeScript RTase在42℃下反应能够很好的合成cDNA。

以RNA Ladder (1、2、4.4、6.4、8.4、10、12 kb) 为模板，分别使用PrimeScript RTase及各公司反转录酶进行1st strand cDNA合成，取一定量的cDNA进行变性凝胶电泳后，SYBR Green II染色，再利用荧光图像分析仪FMBIO II进行检出。使用各公司推荐的条件进行反应。

结果表明，PrimeScript RTase不仅能够合成短链cDNA，也能合成长链cDNA，且合成的cDNA背景很低，即可以合成全长比例很高的高品质cDNA。

◆ 具有较强的置换延伸活性



PrimeScript RTase的另一大特点是具有较强的置换延伸活性。

利用这一特点，在对RNA损伤很小的42℃条件下进行反应时，对于结构复杂的RNA及长链RNA也能够进行低背景cDNA合成。

置换延伸活性的比较

以RNA transcript为模板，分别使用PrimeScript RTase及A公司反转录酶（适宜反应温度50℃），同时加入Oligo dT引物和序列特异性引物进行cDNA合成，对产物进行了解析。

结果表明，Oligo dT引物合成全长cDNA时，序列特异性引物合成的4.4 kb产物被置换下来。通过比较两种产物的量，表明PrimeScript RTase优于A公司的反转录酶，确认了PrimeScript RTase在42℃具有很强的置换延伸活性。

■ PrimeScript™ RTase关联cDNA合成Kit

PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit

- 包含1st strand cDNA合成所需的所有必要组分

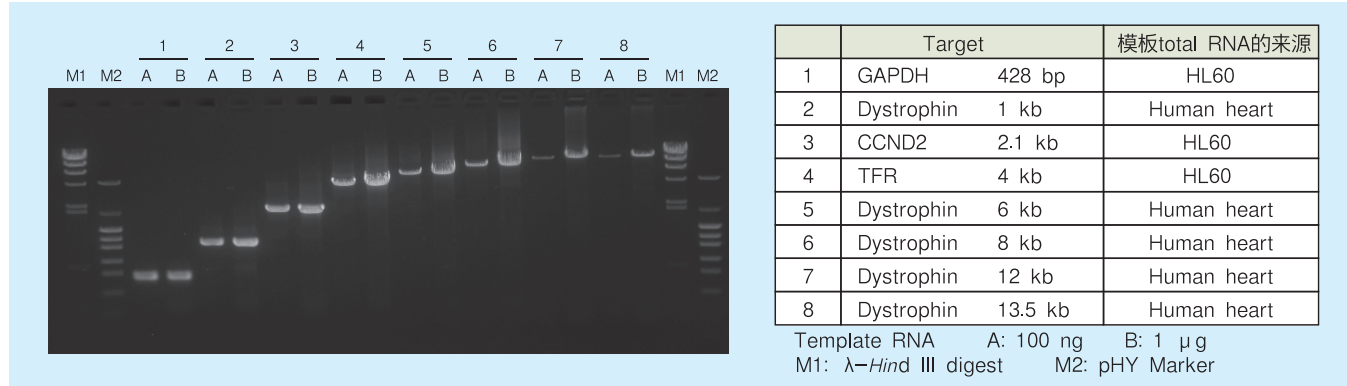
PrimeScript™ Double Strand cDNA Synthesis Kit

- 包含双链cDNA合成所需的所有必要组分
- 利于文库制备

6110A	50 次
6110B	200 次
6111A	10 次

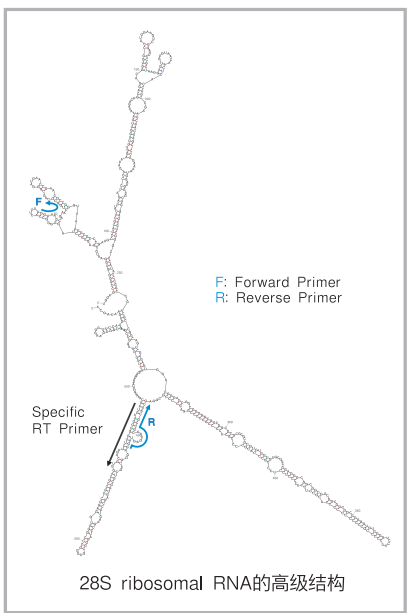
起始的cDNA合成也很容易

◆ 良好的延伸性 ~已确认42℃反应条件下可以合成13.5 kb大小的片段~

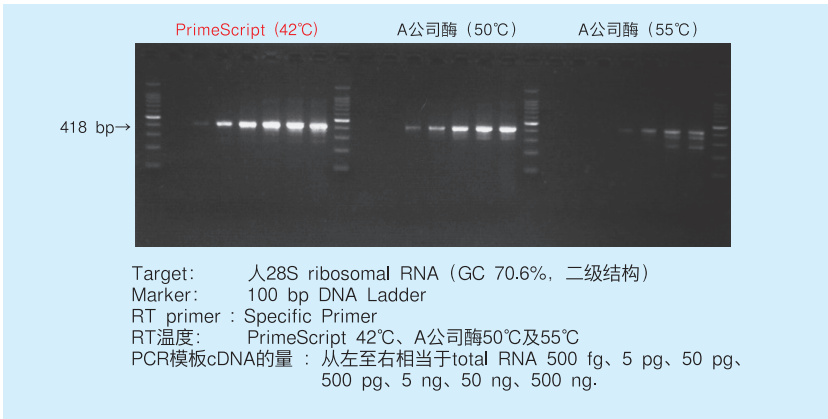


以人心脏和HL60细胞来源的total RNA (100 ng和1 μg/20 μl反应体系) 为模板, 使用PrimeScript RTase及Oligo dT进行cDNA合成 (42℃, 30分钟), 以2.5 μl合成后的cDNA作为模板 (25 μl反应体系) 进行PCR, 扩增得到0.5~13.5 kb的目的片段。说明了PrimeScript RTase具有很好的延伸性。

◆ 高级结构的RNA也可在42℃条件下进行扩增



以具有高级结构的28S ribosomal RNA为模板, 使用PrimeScript RTase及A公司反转录酶进行cDNA合成, 对同一PCR反应条件下合成的cDNA进行了比较。结果显示, PrimeScript RTase对于含有高级结构的RNA也具有高灵敏度及高扩增效率。另外, PrimeScript RTase在42℃反应条件下的cDNA收量也很高。



■ PrimeScript™ RTase关联RT-PCR Kit



PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2

- PrimeScript™ RTase与TaKaRa Ex Taq HS搭配使用的1 step RT-PCR kit。
- Premix版本, 易于操作、减少污染。

RR055A	50 次
RR055B	200 次



PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus)

- 添加电泳色素的premix。 ● 反应液可直接电泳。

RR057A	50 次
RR057B	200 次



PrimeScript™ RT-PCR Kit

- PrimeScript™ RTase与TaKaRa Ex Taq HS搭配使用的2 step RT-PCR kit。
- 对于含有高级结构的RNA模板, 42℃反应显示了很好的延伸性, 可高效获得RT-PCR扩增产物。

RR014A	50 次
RR014B	200 次



PrimeScript™ High Fidelity RT-PCR Kit

- 能够高效率地获得高保真性的RT-PCR扩增产物。
- 在42℃条件下反转录也可以使具有复杂结构的RNA进行良好的延伸。

R022A	50 次
R022B	200 次

PrimeScript™ II Reverse Transcriptase

PrimeScript™ II RTase是PrimeScript™ RTase添加辅助蛋白质而形成的改良品，能够很好的抑制cDNA合成的阻碍因素。尤其是使用Oligo dT引物的polyA延伸反应，能够得到低背景高质量的全长cDNA产物。

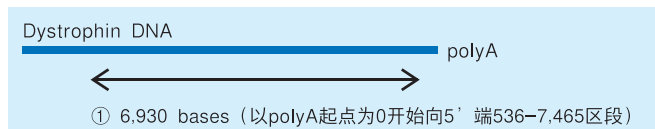
2690A	10,000 U
2690B	40,000 U
2690C	100,000 U

◆ 可以合成高质量的长链cDNA

评价实验1：长链cDNA合成的比较

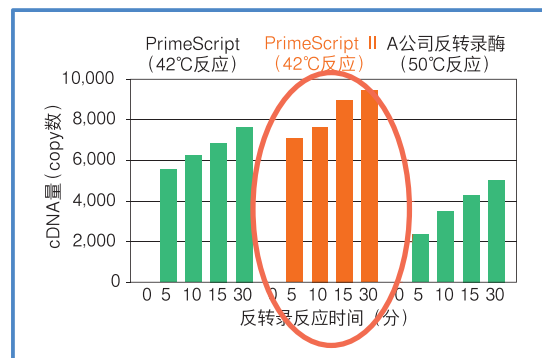
【方法】

以人心脏来源的1 μg total RNA为模板，使用Oligo dT Primer进行cDNA合成。使用PrimeSTAR GXL对Dystrophin基因polyA附近开始长达6,930个碱基（下图区域①）的长链cDNA进行了Real-Time PCR定量。



【结果】

PrimeScript II RTase相对于PrimeScript RTase显示了更好的长链延伸性。另外，PrimeScript RTase和PrimeScript II RTase反转录反应5分钟的cDNA合成量已经超出cDNA最大合成量的70%，同A公司酶相比，显示了更好的cDNA合成速度。

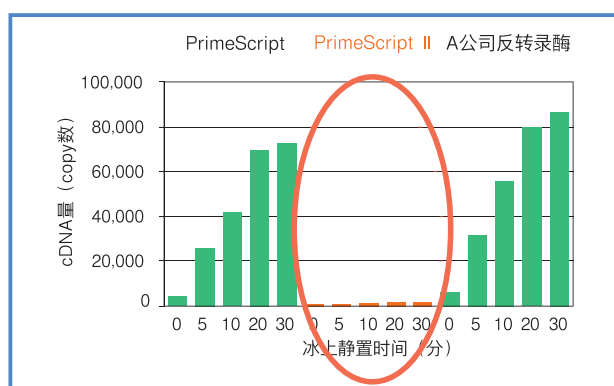
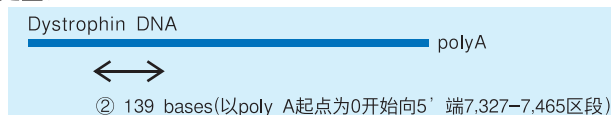


◆ 有效抑制由于引物错配引起的背景

评价实验2：除polyA外的非特异性延伸产物量（背景）的测定

【方法】

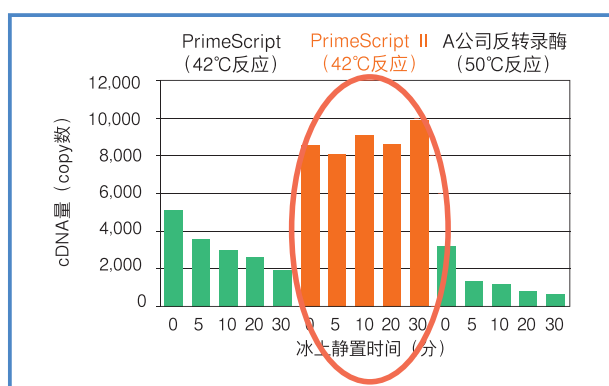
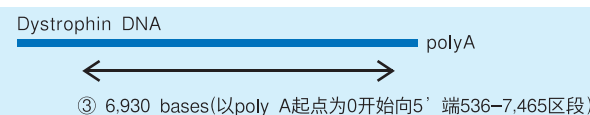
以人心脏来源的1 μg total RNA为模板，使用Oligo dT Primer在冰上配置cDNA合成所需的反应液。配好后将反应液冰上放置0~30分钟后，不进行反转录反应直接95℃加热停止反应。以上述反应液为模板，对Dystrophin基因区域②（polyA开始距离7,327个碱基后的139个碱基；见下图）的cDNA进行Real Time PCR定量。



评价实验3：起始于polyA的长链cDNA的合成，冰上放置时间对cDNA合成的抑制程度？

【方法】

将与评价实验2相同的cDNA合成反应液置于冰上放置，放置0~30分钟后以各自推荐的条件进行反转录反应，加热至95℃终止反应。以此反应液为模板，使用PrimeSTAR GXL对Dystrophin基因区域③（polyA开始6,930个碱基；下图）的cDNA进行Real Time PCR的定量。



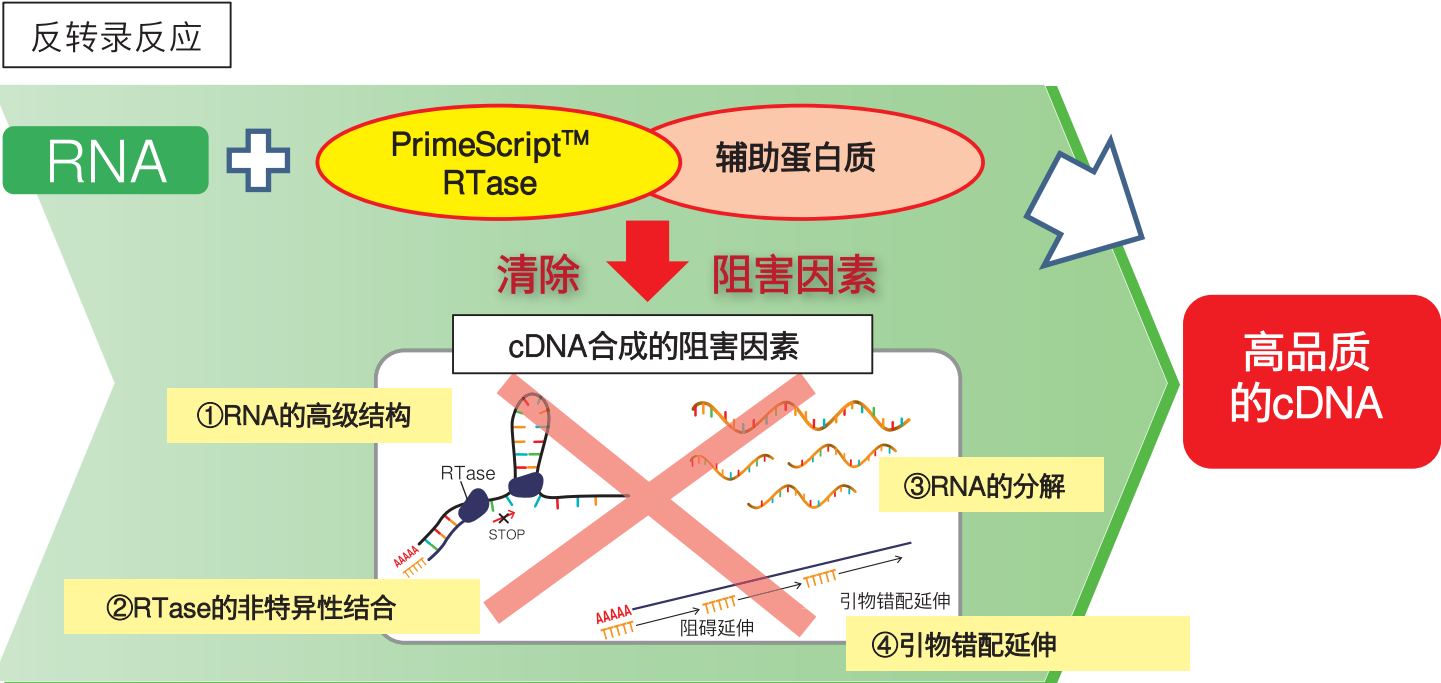
【结果】

PrimeScript RTase与A公司反转录酶，随着反应液在冰上放置时间的增长，除polyA以外来源的非特异的产物增加（实验2），相反之后的反转录反应polyA起始的长链延伸产物量减少（实验3）。

由此推测背景的产生会抑制cDNA的合成。而使用PrimeScript II RTase配置的反应液在冰上的放置时间不会使polyA以外的非特异性的产物增加（实验2），之后经polyA进行反转录反应，cDNA的合成也没有受到抑制（实验3）。由此可知使用PrimeScript II RTase经polyA起始的cDNA合成，能得到背景低且全长比例高的高品质cDNA。

! PrimeScript™ II RTase 配置好反应液后，冰上放置至反应开始即使有时间间隔，cDNA的合成也不会受到影响。

更高品质的全长cDNA合成得以实现



■ 使用PrimeScript™ II RTase合成cDNA的优先推荐Kit

PrimeScript™ II 1st strand cDNA synthesis Kit

- 通过辅助蛋白质的添加，高效抑制了背景
- 高级结构RNA及长链RNA起始也可以合成高品质cDNA
- 具有良好的长链延伸性能，可获得全长cDNA
- All-in-one 型试剂盒，包含1st strand cDNA合成所需的所有必要组分

6210A	50 次
6210B	200 次

■ 使用PrimeScript™ II RTase的RT-PCR Kit



PrimeScript™ II High Fidelity One-Step RT-PCR Kit

- 使用了高保真PCR酶PrimeSTAR GXL，更适合一步法
- 可正确且高速地进行反应

R026A	50 次
R026B	200 次



PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit

- 使用了高保真PCR酶PrimeSTAR GXL
- 实现正确性更高的RT-PCR

R023A	50 次
R023B	200 次

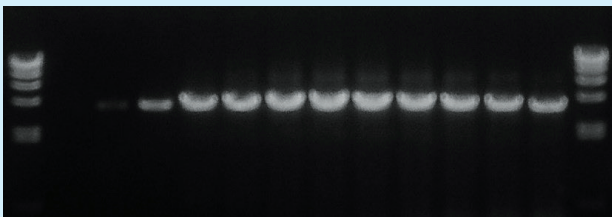
◆ 宽广的模板使用范围 (2 step RT-PCR)

【方法】

以HL60细胞来源的total RNA (100 pg~6 μg) 为模板，使用Oligo dT Primer进行反转录反应 (20 μl反应体系)。反转录后取其中一部分 (5 μl) 用于PCR (50 μl反应体系) 扩增4 kb的TFR基因 (Transferrin receptor)。

【结果】

使用PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit进行RT-PCR，RT反应时total RNA量至6 μg/20 μl时也可以很好地扩增4 kb的TFR基因。PrimeSTAR GXL克服了大多数高保真酶由于核酸浓度过高而引起的反应抑制性，因此，使用本试剂盒时模板使用量范围更加宽广。



目的基因：TFR 4 kb
Marker: λ-Hind III digest
PCR模板量：从左至右依次相当于25, 250 pg, 2.5, 25, 50, 125, 250, 500, 750 ng, 1, 1.25, 1.5 μg。

2 step Real Time RT-PCR专用的反转录试剂盒

分装型

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)

预混型

PrimeScript™ RT Master Mix (Prefect Real Time)



RR037A	200 次 (10 μl 反应体系)
RR037B	800 次 (10 μl 反应体系)

RR036A	200 次 (10 μl 反应体系)
RR036B	800 次 (10 μl 反应体系)

Real-Time RT-PCR实验流程

Total RNA的制备 MiniBEST Kit等

反转录反应 PrimeScript™ RT Kit

反转录反应37℃, 15分钟

Real Time PCR(qPCR)

嵌合法

- TB Green™ Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR820)
- TB Green™ Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus) (Code No. RR420)
- TB Green™ Fast qPCR Mix (Code No. RR430)
- TB Green™ Premix DimerEraser (Perfect Real Time) (Code No. RR091)
- TB Green™ Premix Ex Taq GC (Perfect Real Time) (Code No. RR071)

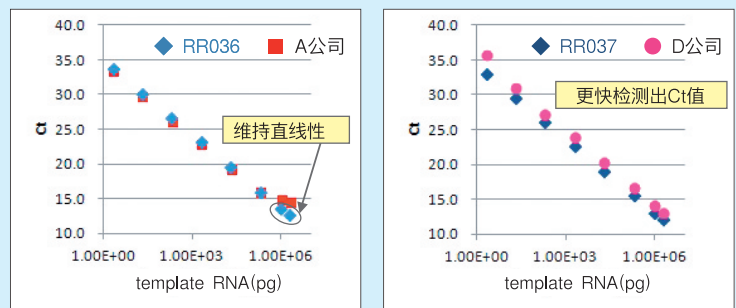
探针法

- Probe qPCR Mix (Code No. RR391)
- & 引物探针设计合成验证一条龙服务

- 反转录反应仅需15分钟即可完成
- 操作简单且适用于高通量测序

◆ 可实现高反转录效率和宽线性范围扩增

使用PrimeScript™ RT Kit系列及A公司、D公司的反转录试剂盒，按各自推荐的条件进行反转录反应后，对qPCR标准曲线的线性关系和反转录效率进行了比较。从低浓度到高浓度的RNA，PrimeScript™ RT系列均可在短时间内高效率地进行cDNA合成。



- 反转录反应 (20 μl 反应体系) · 模板: HL60 total RNA 2 pg~2 μg
- qPCR (25 μl 反应体系)
- 试剂: TB Green™ Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (Code No.: RR820A)
- 模板: 上述反转录反应液 各2 μl · 目的基因: RPLP1
- 引物: 引物设计合成验证一条龙服务
- qPCR仪: Thermal Cycler Dice Real Time System II (Code No.: TP900)

	RR036、RR037	A公司制品	D公司制品
反应条件	37℃ 15分钟	25℃ 10分钟 42℃ 60分钟	37℃ 15分钟
反应时间	85℃ 5秒	85℃ 5分	85℃ 5秒
	大约15分钟	大约75分钟	大约20分钟

加入去除基因组DNA的反应步骤

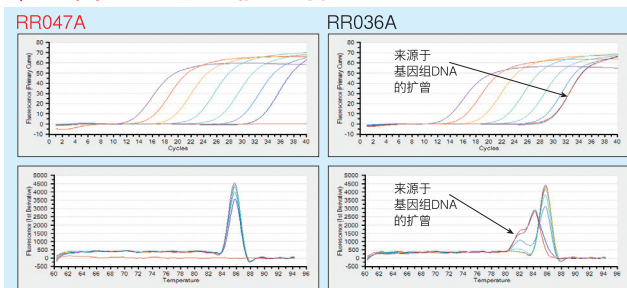
PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)

- 仅使用试剂盒附带的gDNA Eraser处理就可以高效去除残留的基因组DNA。
- 基因组DNA去除仅需要处理2分钟 (42℃) 即可。反转录反应仅需要15分钟。

解决Real Time RT-PCR时total RNA中基因组残留问题的理想试剂盒。通过使用特殊的反转录反应buffer充分抑制gDNA Eraser中DNase I的活性，无需失活操作及DNase I去除操作。

RR047A	100 次 (20 μl 反应体系)
RR047B	400 次 (20 μl 反应体系)

◆ 基因组DNA处理能力的验证



以基因组DNA混入的total RNA为模板时，通过使用本制品含有的gDNA Eraser处理后，基因组DNA完全去除，只获得cDNA来源的扩增产物。

- 模板: HL60 total RNA (0.1 pg、10 pg、100 pg、1 ng、10 ng、100 ng、1 μg) + Human genomic DNA 1 ng
- 反转录反应: RR047A及RR036A以各自推荐的条件反应
- qPCR试剂: TB Green™ Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus)
- qPCR引物: 引物设计合成验证一条龙服务 (内含子大小: 129 bp)
- qPCR仪: Thermal Cycler Dice Real Time System II (Code No. TP900)



1 step Real Time RT-PCR专用试剂盒

嵌合法

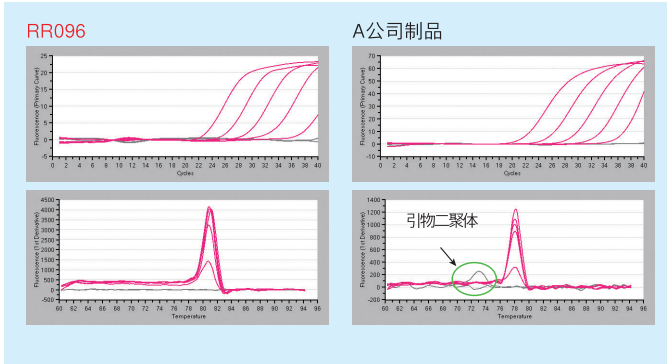
One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

RR096A	100 次(50 μl反应体系)
RR096B	500 次(50 μl反应体系)

● 使用新型的反转录酶PrimeScript PLUS RTase
● 辅助蛋白质有效抑制非特异性扩增

该试剂盒使用新的反转录酶PrimeScript Plus RTase和*TaKaRa Ex Taq®* HS的组合，能进行高灵敏度和高效率检出。另外，本制品添加了相应的buffer和辅助蛋白质，有效抑制非特异性扩增，提高反应性能。

◆ 可实现高反转录效率和宽广线性范围扩增



· 模板：HL60细胞来源total RNA 10 pg~100 ng及灭菌水（2个反应）
· 目的基因：TFRC
· PCR仪：Thermal Cycler Dice Real Time System
· 试剂：One Step TB Green™ PrimeScript PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)(Code No. RR096)及A公司产品

反应条件：
[RR096] 42℃ 5分钟→95℃ 10秒
→ (95℃ 5秒/60℃ 30秒) × 40 cycles
→ 融解曲线分析
[A公司产品] 50℃ 30分钟→95℃ 15分钟
→ (94℃ 15秒/55℃ 30秒/72℃ 30秒) × 40 cycles
→ 融解曲线分析

A公司产品有少量引物二聚体产生，本公司产品无非特异性扩增，反应特异性高。结果还表明本制品在扩增效率方面也优于A公司产品，得到的扩增曲线起峰早，定量范围广。

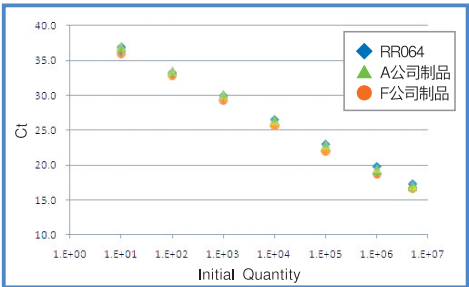
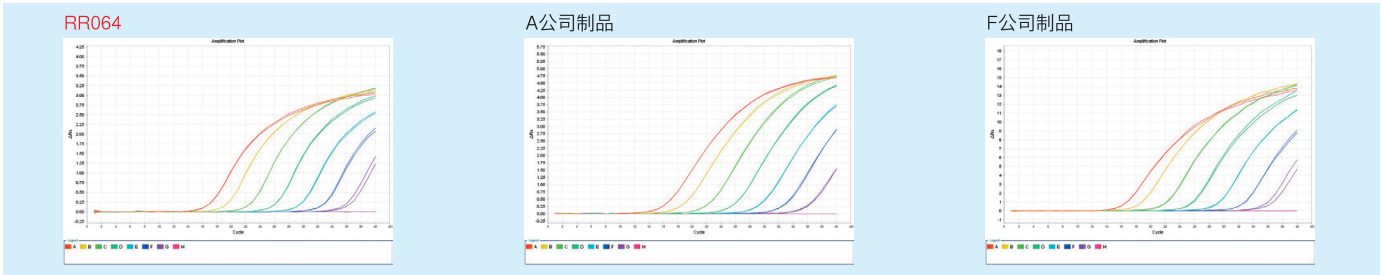
探针法

One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)

RR064A	100 次(50 μl反应体系)
RR064B	500 次(50 μl反应体系)

- 同其他公司产品相比，可在更短时间内进行高重复性分析
- 已确认使用各公司的Real Time PCR装置均可进行良好的扩增反应

◆ 解析时间短，反应结果好



模板：小鼠肝脏来源的1 pg→500 ng total RNA
目的基因：Actb(使用TaqMan Gene Expression Assays)
PCR仪：Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System

	RR064	A公司制品	F公司制品
RT	42℃ 5分钟	48℃ 15分钟	50℃ 10分钟
Preheat	95℃ 10秒 (Denature)	95℃ 10分钟 (Activation)	50℃ 10分钟 (Activation)
qPCR	95℃ 3秒 60℃ 25秒 40 cycles	95℃ 15秒 60℃ 60秒 40 cycles	95℃ 10秒 60℃ 30秒 40 cycles
解析时间	41分钟	114分钟	60分钟

PrimeScript™ RTase关联制品一览

反 转 录 酶	概 要	Code No.	包 装 量
---------	-----	----------	-------

反转录酶

PrimeScript™ Reverse Transcriptase	高性能反转录酶。	2680A	10,000 U
		2680B (A × 4)	40,000 U
		2680C (A × 10)	100,000 U
PrimeScript™ II Reverse Transcriptase	能够合成高质量的全长cDNA的 高级反转录酶 。	2690A	10,000 U
		2690B (A × 4)	40,000 U
		2680C (A × 10)	100,000 U

1st strand cDNA合成

PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit	含有1st strand cDNA合成所需的所有必要组分，方便使用。	6110A	50 次
		6110B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ II 1st strand cDNA Synthesis Kit	使用PrimeScript II RTase合成1st strand cDNA时的首选试剂。	6210A	50 次
		6210B (A × 4)	200 次

双链cDNA合成

PrimeScript™ Double Strand cDNA Synthesis Kit	含有双链cDNA合成所需的所有必要组分，方便使用。	6111A	10 次
--	---------------------------	-------	------

用于End point RT-PCR的PrimeScript制品

1 Step RT-PCR

PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2	与TaKaRa Ex Taq HS组合更适用于1 step反应。预混型试剂，方便使用。	RR055A	50 次
		RR055B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus)	在上述RR055中添加色素试剂和比重试剂。反应液可直接电泳。	RR057A	50 次
		RR057B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ II High Fidelity One Step RT-PCR Kit	PCR酶采用PrimeSTAR GXL，对于长链及GC rich RNA起始也能合成高保真的cDNA。	R026A	50 次
		R026B (A × 4)	200 次

2 Step RT-PCR

PrimeScript™ RT-PCR Kit	与TaKaRa Ex Taq HS组合使用，具有良好的延伸性能和高扩增效率。	RR014A	50 次
		RR014B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶采用高保真酶PrimeSTAR Max，正确性更高。	R022A	50 次
		R022B (A × 4)	200 次
PrimeScript™ II High Fidelity RT-PCR Kit	PCR酶采用高保真酶PrimeSTAR GXL。长链及GC rich RNA起始也能合成高保真的cDNA。	R023A	50 次
		R023B (A × 4)	200 次

用于Real Time RT-PCR的PrimeScript制品

2 Step Real Time RT-PCR专用反转录kit

PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)	- 反转录反应仅需15分钟。 - 宽广的浓度范围内保持高线性关系。	RR037A	200 次 (10 μl反应体系)
		RR037B (A × 4)	800 次 (10 μl反应体系)
PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)	预混型 (RR036) 和分装型 (RR037)。	RR036A	200 次 (10 μl反应体系)
		RR036B (A × 4)	800 次 (10 μl反应体系)
PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)	- 添加了去除基因组DNA的反应步骤 (42℃ 2分钟)。 - 反转录反应仅需15分钟。	RR047A	100 次 (20 μl反应体系)
		RR047B (A × 4)	400 次 (20 μl反应体系)

嵌合法 (TB Green™检测) 用1 step Real Time RT-PCR试剂

One Step TB Green™ PrimeScript™ PLUS RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	- 辅助蛋白质可有效抑制非特异性扩增。 - 嵌合法1 step Real Time RT-PCR用理想试剂。	RR096A	100 次 (50 μl反应体系)
		RR096B (A × 4)	500 次 (50 μl反应体系)
One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	- 快速反应型。 - 注重扩增效率的试剂盒。	RR066A	100 次 (50 μl反应体系)
		RR066B (A × 4)	500 次 (50 μl反应体系)

探针法检测用1 step Real Time RT-PCR试剂

One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit (Perfect Real Time)	- 适用于探针法检测的体系。 - 较其他公司的同类试剂解析时间更短。	RR064A	100 次 (50 μl反应体系)
		RR064B (A × 4)	500 次 (50 μl反应体系)

注：文中涉及实验数据均引用自Takara Bio Inc.

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可及注册商标信息请在网站上确认：<http://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品是2018年1月1日的信息，最新信息请参见公司官网。

Ver.4 2017年12月印刷 10K



宝日医生物技术（北京）有限公司

技术咨询电话: 4006518761 4006518769
E-mail: service@takarabiomed.com.cn