

通用 RT-PCR 试剂盒 (AMV)

货号：AC14008

规格：50T/100T

保存：-20℃保存，避免反复冻融，复检期为1年。

产品内容：

试剂盒组成	50 次	100 次
AMV(10U/ul)	25ul	50ul
5×AMV Buffer(含 DTT)	250ul	500ul
Oligo(dT) ₁₆ (10uM)	250ul	500ul
RNasin(40U/ul)	25ul	50ul
dNTPs(10mM)	200ul	400ul
Taq Polymerase(5U/ul)	25ul	50ul
10×PCR Buffer	250ul	500ul
RNase-free ddH ₂ O	1ml	2ml
说明书	1 份	1 份

产品简介：

本试剂盒适用于各种 RNA 制品的反转录反应以及随后的 PCR 扩增。它采用 AMV 进行反转录反应，能够获得更长的反转录产物。同时，在 25ul 反转录体系和 50ul PCR 反应体系中，还可以一次性得到足够量的 PCR 产物用于后续的克隆实验。

本试剂盒中配置的酶均为进口的酶。RT 酶采用进口的 AMV，所以 cDNA 更长，基因的信息保留得更完整！反转录过程中特异的 RNase 抑制剂可有效降低由于外源 RNase 污染而导致实验失败的风险。本试剂盒使用方便、快捷，可广泛用于 cDNA 克隆及目的基因检测等分子生物学实验。

操作步骤：

一、反转录反应

1、在冰浴的无菌无 RNase 的离心管中加入如下反应成分：

- 0.5ug RNA 模板
- 5ul Oligo(dT)₁₆ 引物
- 补 RNase-free ddH₂O 至 11.5ul

2、70℃保温 5min 后迅速在冰上冷却 5min，简短离心收集反应液后加入以下各组分：

- 5ul 5×AMV Buffer
- 2.5ul dNTPs
- 0.5ul RNasin
- 0.5ul AMV
- 补 RNase-free ddH₂O 至 25ul

3、42℃温浴 60min，如果是用随机引物，请将离心管置 37℃温浴 60min。

4、反应后将离心管置冰上，反应产物可用于进行后续实验或-20℃保存。

二、PCR 反应

1、按以下各组分配制 50ul PCR 反应体系：

10×PCR Buffer	5ul
dNTPs	1ul
上游引物（用户自备 10um）	1ul
下游引物（用户自备 10um）	1ul
RT 反应产物	2ul
Taq Polymerase	0.5ul
ddH ₂ O	x ul
Total Volume	50ul

2、混匀后短暂离心，PCR 仪扩增，琼脂糖凝胶电泳观察结果。

注意事项：

1、用于 cDNA 合成反应的相关试剂和耗材尽可能用 DEPC 进行处理，并在高压灭菌后使用。有些试剂不能高压灭菌时，首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后，再将溶液进行过滤除菌处理。

2、RNA 样品要避免反复多次冻融，应使 RNA 在冰浴中处于融化状态。

3、如果 PCR 效果不理想，可以适当优化条件，比如改变退火温度或增加模板量。