

通用 RT-PCR 试剂盒(M-MLV)

货号: AC14006

规格: 25T/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 | 25 次 | 50 次 | 100 次 |
|--------------------------------|--------|-------|--------|
| M-MLV(200U/ul) | 25ul | 50ul | 50ul×2 |
| 5×M-MLV Buffer | 100ul | 200ul | 400ul |
| Oligo(dT) ₁₆ (10uM) | 50ul | 100ul | 200ul |
| RNasin(40U/ul) | 12.5ul | 25ul | 50ul |
| dNTPs(10mM) | 50ul | 100ul | 200ul |
| Taq Polymerase(5U/ul) | 12.5ul | 25ul | 50ul |
| 10×PCR Buffer | 125ul | 250ul | 500ul |
| RNase-free ddH ₂ O | 500ul | 1ml | 1ml×2 |
| 说明书 | 1 份 | 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 M-MLV 进行反转录反应, 能够获得较长的反转录产物。同时, 在 20ul 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 M-MLV, 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 RNase 的离心管中加入如下反应成分:

1-5ug 总 RNA 或 50-500ng mRNA

2ul Oligo(dT)₁₆ 或 2 pmole 基因特异性引物

补 RNase-free ddH₂O 至 14.5ul

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

4ul 5×M-MLV Buffer

1ul dNTPs

0.5ul RNasin

1ul M-MLV

3、42℃温浴 60min, 如果是用随机引物, 请先将离心管置 25℃温浴 10min, 再 42℃温浴 60min。

- 4、95℃加热 5min 终止反应，置冰上进行后续实验或-20℃保存。
- 5、用 RNase-free ddH₂O 将反应体系稀释到 50ul，取 2-5ul 进行 PCR 反应。

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、试剂盒的各组分应在-20℃保存，避免反复冻融，有效期 12 个月。
- 3、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。