

通用反转录试剂盒(M-MLV)

货号：AC14007

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
M-MLV(200U/μL)	50μL	50μL×2
5×M-MLV Buffer	200μL	400μL
Oligo(dT) ₁₆ (10uM)	100μL	200μL
RNasin(40U/μL)	25μL	50μL
dNTPs(10mM)	50μL	100μL
RNase-free ddH ₂ O	1mL	1mL×2
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。它采用 M-MLV 进行反转录反应，能够获得较长的反转录产物用于后续的 PCR 扩增和分子克隆实验。

本试剂盒中配置的酶为进口的酶。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

关于逆转录引物的选择：

(1)如果模板为真核生物来源，建议用 Oligo(dT)₁₆，Oligo(dT)₁₆可以与真核生物 mRNA的3' PolyA尾配对，可获得高产量的全长 cDNA。(2)模板为原核生物RNA 的反转录请选用Random引物或者基因特异性引物。Random引物适用于mRNA、tRNA和rRNA等所有RNA的反转录反应，对物种没有限制，病毒、细菌、植物、动物等都可使用。

1、在冰浴的无 RNase 的离心管中加入如下反应成分：

1-5μg 总 RNA 或 50-500ng mRNA

2μL Oligo(dT)₁₆ 或 2μL Random 或 2 pmole 基因特异性引物

补 RNase-free ddH₂O 至 14.5μL

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：

4μL 5×M-MLV Buffer

1μL dNTPs

0.5μL RNasin

1μL M-MLV

- 3、42℃温浴 60min，如果是用Random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、若用于后续 PCR 扩增,用 RNase-free ddH₂O 将反应体系稀释到 50μL，取 2-5μL 作为 PCR 反应模板。

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、试剂盒的各组份应在-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。

相关产品：

AC13885	Random
AC13886	Oligo T16
AC13939	DEPC 处理水
AC17137	50×TAE 缓冲液
AC17095	液相 RNase 清除剂
AC13934	总 RNA 提取试剂盒
AC13982	5×RNA Loading Buffer
AC10990	10×DNA 上样缓冲液
AC14008	通用 RT-PCR 试剂盒(AMV)含 Mg