



通用 RT-PCR 试剂盒(M-MLV)

货号: RP1100

规格: 25T/50T/100T

保存: -20°C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/μL)	25μL	50μL	50μL×2
5×M-MLV Buffer	100μL	200μL	400μL
Oligo(dT) ₁₆ (10μM)	50μL	100μL	200μL
Random 引物(10μM)	50μL	100μL	200μL
RNasin(40U/μL)	12.5μL	25μL	50μL
dNTPs(10mM)	50μL	100μL	200μL
Taq Polymerase(5U/μL)	12.5μL	25μL	50μL
10×PCR Buffer	125μL	250μL	500μL
RNase-free ddH ₂ O	500μL	1ml	1ml×2

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 20μL 反转录体系和 50μL 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 (仅供参考):

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'Poly A 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。

(3) 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 2pmole 基因特异性引物

补 RNase-free ddH₂O 至 14.5μL

2、70°C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：

4 μ L 5 \times M-MLV Buffer
1 μ L dNTPs
0.5 μ L RNasin
1 μ L M-MLV

3、42°C温浴 60min，如果是用 Random 引物，请先将离心管置 25°C温浴 10min，再 42°C温浴 60min。

4、95°C加热 5min 终止反应，置冰上进行后续实验或-20°C保存。

5、用 RNase-free ddH₂O 将反应体系稀释到 50 μ L，取 2-5 μ L 进行 PCR 反应。

二、PCR 反应

1、按以下各组分配制 50 μ L PCR 反应体系：

10 \times PCR Buffer	5 μ L
dNTPs	1 μ L
上游引物（用户自备 10 μ m）	1 μ L
下游引物（用户自备 10 μ m）	1 μ L
RT 反应产物	2 μ L
Taq Polymerase	0.5 μ L
ddH ₂ O	x μ L
Total Volume	50 μ L

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°C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：

R1600 DEPC 处理水
SR0060 液相 RNase 清除剂
R1200 总 RNA 提取试剂盒
SR0080 RNAsaver RNA 长效保存液
R1050 5 \times RNA Loading Buffer
RP1200 通用 RT-PCR 试剂盒(AMV)含 Mg
PC2440 Random
PC2450 Oligo T16
D1020 10 \times DNA 上样缓冲液
T1060 50 \times TAE 缓冲液