

## 通用 RT-PCR 试剂盒(M-MLV)

货号: RP1100

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) <sub>16</sub> (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 <sub>2</sub> 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)<sub>16</sub> 或 2 pmole 基因特异性引物

补 RNase-free ddH<sub>2</sub>O 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 ddH<sub>2</sub>O 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 <sub>2</sub> 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。

### 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×RNA Loading Buffer
RP1200	通用 RT-PCR 试剂盒(AMV)含 Mg
PC2440	Random
PC2450	Oligo T16
D1020	10×DNA 上样缓冲液
T1060	50×TAE 缓冲液