

通用RT-PCR试剂盒(M-MLV)

产品货号: T11233

产品规格: 25T/50T/100T

产品介绍:

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20 μL反转录体系和50 μL 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。

产品组成:

试剂盒组成	25T	50T	100T
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

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:

4μL 5×M-MLV Buffer

1μL dNTPs

0.5μL RNasin



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

1 μ L M-MLV

- 42 $^{\circ}$ C温浴60min, 如果是用Random引物, 请先将离心管置25 $^{\circ}$ C温浴10min, 再42 $^{\circ}$ C温浴60min。
- 95 $^{\circ}$ C加热5min终止反应, 置冰上进行后续实验或-20 $^{\circ}$ C保存。
- 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

- 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

- 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:

- 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。
- 试剂盒的各组分应在-20 $^{\circ}$ C保存, 避免反复冻融, 有效期12个月。
- 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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>