

## 通用RT-PCR试剂盒(AMV)

产品货号: T11234

产品规格: 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AMV进行反转录反应,能够获得更长的反转录产物。同时,在25ul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AMV,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                                | 50T         | 100T        |
|--------------------------------------|-------------|-------------|
| AMV(10U/ul)                          | 25 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L  |
| 5 $\times$ AMV Buffer(含DTT)          | 250 $\mu$ L | 500 $\mu$ L |
| Oligo(dT) <sub>16</sub> (10 $\mu$ M) | 250 $\mu$ L | 500 $\mu$ L |
| RNasin(40U/ul)                       | 25 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L  |
| dNTPs(10mM)                          | 200 $\mu$ L | 400 $\mu$ L |
| Taq Polymerase(5U/ $\mu$ L)          | 25 $\mu$ L  | 50 $\mu$ L  |
| 10 $\times$ PCR Buffer               | 250 $\mu$ L | 500 $\mu$ L |
| RNase-free ddH <sub>2</sub> O        | 1mL         | 2mL         |

### 操作步骤(仅供参考):

#### 一、反转录反应

1. 在冰浴的无菌无RNase的离心管中加入如下反应成分:

0.5ug RNA模板

5ul Oligo(dT)<sub>16</sub>引物

补RNase-free ddH<sub>2</sub>O至11.5ul

2. 70 $^{\circ}$ C保温5min后迅速在冰上冷却5min,简短离心收集反应液后加入以下各组分:

5ul 5 $\times$ AMV Buffer

2.5ul dNTPs

0.5ul RNasin

0.5ul AMV

补RNase-free ddH<sub>2</sub>O至25ul

3. 42 $^{\circ}$ C温浴60min,如果是用随机引物,请将离心管置37 $^{\circ}$ C温浴60min。

4. 反应后将离心管置冰上,反应产物可用于进行后续实验或-20 $^{\circ}$ C保存。

#### 二、PCR反应

1. 按以下各组分配制50 $\mu$ L PCR反应体系:



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

|                    |       |
|--------------------|-------|
| 10×PCR Buffer      | 5μL   |
| dNTPs              | 1μL   |
| 上游引物（用户自备10μm）     | 1μL   |
| 下游引物（用户自备10μm）     | 1μL   |
| RT 反应产物            | 2μL   |
| Taq Polymerase     | 0.5μL |
| ddH <sub>2</sub> O | xμL   |
| Total Volume       | 50μL  |

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。
4. 如果PCR效果不理想，可以适当优化条件，比如改变退火温度或增加模板量。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com