



# M-MLV III First-Strand cDNA Synthesis Kit

## 产品信息:

组成	MT402-01 (50次)
M-MLV III (200U/μl)	10000U
5×RT Mix	500μl×2
Random Primer(N9)(0.1μg/μl)	60μl
Anchored Oligo(dT) <sub>20</sub> Primer(0.5μg/μl)	60μl
H <sub>2</sub> O(RNase free)	1ml×2

**存储条件:** -20℃保存一年

**制品说明:** 本产品以 RNA 为模板, 用高效合成第一链 cDNA, 操作简单。

## 产品特点:

- 1.M-MLV III 是通过基因重组技术改造, 在大肠杆菌中表达纯化得到的高温反转录酶, 去除 RNaseH 活性。可在 40℃-55℃条件下合成第一链cDNA, 具有灵敏度高, 特异性高, 热稳定性高和半衰期长的特点, 可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长cDNA 文库的构建;
2. Anchored Oligo(dT)<sub>20</sub> 设计独特能锚定 mRNA Poly(A)<sup>+</sup> 的 5'端区域, 退火位点锚定, 特异性高, 保证 cDNA 合成效率和成功率;
3. 可用 Random Primer (N9) 或基因特异引物 (GSP) 合成第一链 cDNA;
4. 合成片段≤15kb;
5. 适用于高拷贝基因检测。

## 操作步骤:

为方便保存和运输本产品所配 Random Primer(N9)和 Anchored Oligo(dT)<sub>20</sub> 均为干粉, 使用前需用 RNase free H<sub>2</sub>O 溶解, 具体体积参见产品标签。

### 第一链cDNA合成。(以20 μl反应体系为例)

#### 1.加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5μg/5-500ng
Anchored Oligo(dT) <sub>20</sub> (0.5μg /μl)	1μl
or Random Primer(N9)(0.1μg/μl)	1μl
or GSP	2pmol
5× RT Mix	4μl
M-MLV III	1μl
H <sub>2</sub> O(RNase free) to final volume	20μl

#### 2.轻轻混匀

如用Anchored Oligo(dT)<sub>20</sub>或基因特异引物(GSP), 42℃孵育50min。

如用Random Primer(N9), 25℃孵育10 min, 42℃孵育50 min。

如果扩不出, 可能存在RNA二级结构, 建议提高温度从新扩增。

3. 85℃加热15 min失活M-MLV III。

## RT-PCR

建议取1/10-1/5 体积(2-4μl)的反转录产物作为PCR模板。

**建议PCR条件(以50 $\mu$ l反应体系为例)**

Components	Volume
cDNA	2 $\mu$ l
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l
10 $\times$ Taq Buffer(with Mg <sup>2+</sup> )	5 $\mu$ l
10 mM dNTPs	1 $\mu$ l
Taq DNA Polymerase	0.5-1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O to final volume	50 $\mu$ l

**PCR 循环**

94 $^{\circ}$ C 2-5min

94 $^{\circ}$ C 30sec

50-60 $^{\circ}$ C 30sec

72 $^{\circ}$ C 1-2kb/min

72 $^{\circ}$ C 5-10min

30-40 cycles

**注意事项:**

1. 避免RNase污染。
2. 为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。

BM20210602