



M-MLV III One-Step RT-PCR Kit

产品信息:

组成	MT421-01 (40次)
M-MLVIII Enzyme Mix	50µl
2× One-Step Reaction Mix	1ml
H ₂ O(RNase free)	1ml

制品说明:

M-MLV III Enzyme Mix是具有高效合成能力和高扩增效率的一步法RT-PCR试剂盒。本试剂盒以RNA模板,反向基因特异引物为反转录引物合成cDNA;然后以合成的cDNA为模板,正向、反向基因特异引物进行PCR,在同一个反应管中,同一反应体系中一步完成从反转录到PCR的全部反应。

产品特点:

- 1.反转录反应温度范围广,从37°C到55°C均可进行,因此既可用于常规反转录,也可用于高GC含量和具有复杂二级结构的RNA模板的反转录;
- 2.反应所需试剂只有两种,操作简单,同时降低了污染几率;
- 3.PCR产物3'端加有一个A碱基,可克隆入T载体。

注意事项:

- 1.严格避免RNA酶污染;
- 2.使用高质量的RNA模板;
- 3.对于低拷贝基因或长片段基因,建议适当增加RNA模板量;
- 4.只能使用特异引物,不能使用Oligo(dT)和Random Primer。

操作步骤:

- 1.按下列组成配制反应液(反应液配制应在冰上进行):

组成成分	50µl 体系
2× One-Step Reaction Mix	25µl
Forward primer (10µM)	1µl
Reverse primer (10µM)	1µl
RNA(1pg-1µg)	xµl
M-MLVIII Enzyme Mix	1µl
RNase Free water to	50µl

- 2.直接在PCR仪中进行反转录和PCR反应(条件参照以下实验流程),如果使用该程序得不到良好的实验结果时,再进行PCR条件的优化。

循环	步骤	温度	时间	内容
1cycle	1	37-60°C	15-30min	反转录
1cycle	2	94°C	3min	反转录酶灭活和cDNA 变性
	3	94°C	30sec	变性
25-40cycles	4	Tm-5°C	30sec	退火
	5	72°C	1min/kb	延伸
1cycle	6	72°C	7min	延伸

- 3.反应结束后,取PCR反应液(5~10µl)进行琼脂糖凝胶电泳。