

# M-MLV III One-Step RT PCR Kit



## 产品信息:

组成	MT422-01
2× One-Step Reaction mix	1.25ml
M-MLV III Enzyme mix	75μl
H <sub>2</sub> O(RNase free)	1ml

储存条件: -20℃ 保存。

## 产品简介:

M-MLV III One Step RT-PCR Kit 专为以 RNA 为模板的终点法 PCR 检测而设计。使用基因特异引物 (GSP), 逆转录和 PCR 反应在一管内完成, 不需要额外的开管/移液操作, 大大提高了检测通量, 并降低了污染的风险。经过优化的缓冲体系, M-MLV III One Step RT-PCR Kit 的检测灵敏度可达到 1 pg 总 RNA, 并可扩增长达 12kb 的片段。试剂盒以便捷的 Master Mix 形式提供。

2 × One Step Mix 包含优化的缓冲体系和 dNTP; Enzyme Mix 包含比例优化的 Reverse Transcriptase III、RNase inhibitor 以及 Hot start DNA Polymerase。

## 使用方法:

1. 在 RNase free 离心管中配制如下混合液

2× One-Step Reaction mix	25μl
M-MLV III Enzyme mix	1.5μl
GSP Forward(10μM)	2μl
GSP Reverse(10μM)	2μl
Template RNA	Total RNA: 1pg-1μg mRNA: >0.01pg
H <sub>2</sub> O(RNase free)	Up to 50μl

2. 反应条件

45°C <sup>a</sup>	30min	30-35cycle
94°C	3min	
94°C	30s	
55-72°C <sup>b</sup>	30s	
72°C	0.5-1min/kb <sup>c</sup>	
72°C	5-10min	

a. 如果模板具有复杂二级结构或高GC区域, 可将反应温度提高至50°C, 有助于提高产量;

b. 退火温度需要根据引物T<sub>m</sub>调整;

c. 对于<5kb的片段, 延伸时间最少设置为0.5min/kb, 对于>5kb的片段, 延伸时间最少设置为1min/kb。

## 注意事项:

1. 防止RNase污染, 请保持实验区洁净;
2. 操作时需要戴干净的手套、口罩;
3. 实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证RNase free。