



## Reverse Transcriptase Kit( M-MLV)

版本 2017-05

第一链反转录试剂盒-耐高温酶

Catalog # ZR102

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZR102-1	Reverse Transcriptase Kit( M-MLV)	25T
<input type="checkbox"/> ZR102-2	Reverse Transcriptase Kit( M-MLV)	50T

Store at -20° C

### 产品组成:

组成	ZR102-1	ZR102-2
	25次	50次
1 RT Enzyme Mix	80μl	160μl
2 RT Reaction Mix	180μl	360μl
3 ddH <sub>2</sub> O ( treated by DEPC , Streile )	1 ml	1 ml
4 产品使用说明书	一份	一份

### 产品介绍:

本产品以RNA为模板,以RT Enzyme Mix、RT Reaction Mix 高效合成第一链cDNA,操作简便,降低了操作过程中的污染机率。

RT Enzyme Mix中无RNase H活性,避免了cDNA合成反应中RNA/DNA杂合体中模板RNA被降解;耐热温度高,具有更强的延伸能力和稳定性,可用于较长的cDNA合成以及高比例的全长cDNA文库的构建等。

**适用范围:** 可用于低拷贝基因的检测,产物用于RT-PCR、荧光定量PCR。

**特 点:** pg级RNA反转录,合成cDNA片段长度最高可达12 kb。



## RT步骤 —— 第一链cDNA合成(以20 $\mu$ l反应体系为例, 10 $\mu$ l反应体系也可以。)

### 1. 加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 $\mu$ g/5-500 ng
RT Enzyme Mix	3 $\mu$ l
RT Reaction Mix(摇晃全溶解后使用!)	7 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	add to 20 $\mu$ l

### 2. 轻轻混匀, 45°C 孵育。

备注: 产物用于qPCR, 45°C 孵育15分钟; 产物用于PCR, 45°C 孵育30分钟; 如果目的片段在4Kb以上, 建议45°C 孵育50min。

### 3. 85°C 灭活5分钟, 得到cDNA。该产物可直接用于第二链的合成或RT-PCR扩增反应, 保存请置于-20°C。

### 建议PCR条件(以50 $\mu$ l反应体系为例)

Components	Volume & Final Concentration	Final Concentration
cDNA Template	1-4 $\mu$ l ( As Required )	94°C 2-5 min
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l ( 0.2 $\mu$ M each )	94°C ↓ 30 sec
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l ( 0.2 $\mu$ M each )	50-60°C 30 sec
10 $\times$ Taq Buffer (含Mg <sup>2+</sup> )	5 $\mu$ l ( 1 $\times$ )	72°C 1-2 kb/min
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l ( 0.2 mM )	30-40 cycles
Taq DNA Polymerase	0.5 $\mu$ l ( 2.5 units )	72°C ↓ 5-10 min
ddH <sub>2</sub> O to final volume	50 $\mu$ l ( Not applicable )	

### 注意事项:

- cDNA模板中的部分试剂对PCR有抑制, 所以不是cDNA越多越好。
- 为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。
- 如果RNA模板GC含量丰富或者有复杂的二级结构, 可以先只加RNA模板、引物和RNase Free H<sub>2</sub>O混匀, 65°C变性5min, 冰上冷却30s, 短暂离心后加入其它成分继续下面的反转录步骤。一般情况下失败后, 考虑试用此方法。