



Reverse Transcriptase Kit(M-MLV)

第一链反转录试剂盒-耐高温酶

版本 2020-10

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(20 μ l体系)
<input type="checkbox"/> ZR102-2	Reverse Transcriptase Kit(M-MLV)	50T(20 μ l体系)
<input type="checkbox"/> ZR102-3	Reverse Transcriptase Kit(M-MLV)	200T(20 μ l体系)

Store at -20°C

产品组成:

组成	ZR102-1 25次	ZR102-2 50次	ZR102-3 200次
1 4 \times RT Mix	130 μ l	260 μ l	1040 μ l
2 ddH ₂ O (treated by DEPC, Streile)	1 ml	1 ml	1.5 ml \times 2
3 产品使用说明书	一份	一份	一份

产品介绍:

本产品为一管式第一链cDNA合成试剂, 操作简便, 降低了操作过程中的污染机率。

RT Mix中所用MMLV酶无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;
- 一管式, 操作简便。



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

1.加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 μ g/5-500 ng
4 \times RT Mix	5 μ l
ddH ₂ O	add to 20 μ l

2.轻轻混匀, 45 $^{\circ}$ C孵育。

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

3.85 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C。

建议PCR条件(以50 μ l反应体系为例)

Components	Volume & Final Concentration	Final Concentration
cDNA Template	1-4 μ l (As Required)	94 $^{\circ}$ C 2-5 min
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l (0.2 μ M each)	94 $^{\circ}$ C ↓ 30 sec
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l (0.2 μ M each)	50-60 $^{\circ}$ C 30 sec
10 \times Taq Buffer (含Mg ²⁺)	5 μ l (1 \times)	72 $^{\circ}$ C 1-2 kb/min
2.5 mM dNTPs	4 μ l (0.2 mM)	30-40 cycles
Taq DNA Polymerase	0.5 μ l (2.5 units)	72 $^{\circ}$ C ↓ 5-10 min
ddH ₂ O to final volume	50 μ 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 H₂O混匀, 65 $^{\circ}$ 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。