

通用RT-PCR试剂盒(AMV)

产品货号: T11234

产品规格: 50T/100T

产品介绍:

本试剂盒适用于各种RNA制品的反转录反应以及随后的PCR扩增。它采用AMV进行反转录反应,能够获得更长的反转录产物。同时,在25ul反转录体系和50ul PCR反应体系中,还可以一次性得到足够量的PCR产物用于后续的克隆实验。

本试剂盒中配置的酶均为进口的酶。RT酶采用进口的AMV,所以cDNA更长,基因的信息保留得更完整!反转录过程中特异的RNase抑制剂可有效降低由于外源RNase污染而导致实验失败的风险。本试剂盒使用方便、快捷,可广泛用于cDNA克隆及目的基因检测等分子生物学实验。

产品组成:

试剂盒组成	50T	100T
AMV(10U/ul)	25 μ L	50 μ L
5 \times AMV Buffer(含DTT)	250 μ L	500 μ L
Oligo(dT) ₁₆ (10 μ M)	250 μ L	500 μ L
RNasin(40U/ul)	25 μ L	50 μ L
dNTPs(10mM)	200 μ L	400 μ L
Taq Polymerase(5U/ μ L)	25 μ L	50 μ L
10 \times PCR Buffer	250 μ L	500 μ L
RNase-free ddH ₂ O	1mL	2mL

操作步骤(仅供参考):

一、反转录反应

- 在冰浴的无菌无RNase的离心管中加入如下反应成分:
 - 0.5ug RNA模板
 - 5ul Oligo(dT)₁₆引物
 - 补RNase-free ddH₂O至11.5ul
- 70 $^{\circ}$ C保温5min后迅速在冰上冷却5min,简短离心收集反应液后加入以下各组分:
 - 5ul 5 \times AMV Buffer
 - 2.5ul dNTPs
 - 0.5ul RNasin
 - 0.5ul AMV
 - 补RNase-free ddH₂O至25ul
- 42 $^{\circ}$ C温浴60min,如果是用随机引物,请将离心管置37 $^{\circ}$ C温浴60min。
- 反应后将离心管置冰上,反应产物可用于进行后续实验或-20 $^{\circ}$ C保存。

二、PCR反应

- 按以下各组分配制50 μ L PCR反应体系:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

10×PCR Buffer	5μL
dNTPs	1μL
上游引物（用户自备10μm）	1μL
下游引物（用户自备10μm）	1μL
RT 反应产物	2μL
Taq Polymerase	0.5μL
ddH ₂ O	xμL
Total Volume	50μL

2. 混匀后短暂离心，PCR仪扩增，琼脂糖凝胶电泳观察结果。

注意事项：

1. 用于cDNA合成反应的相关试剂和耗材尽可能用DEPC进行处理，并在高压灭菌后使用。有些试剂不能高压灭菌时，首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后，再将溶液进行过滤除菌处理。
2. 试剂盒的各组分应在-20℃保存，避免反复冻融，有效期12个月。
3. RNA样品要避免反复多次冻融，应使RNA在冰浴中处于融化状态。
4. 如果PCR效果不理想，可以适当优化条件，比如改变退火温度或增加模板量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>