

One Step SuperRT-PCR Mix Kit

产品货号: T11240

产品规格: 50T/200T

产品介绍:

本试剂是用于一步法RT-PCR实验中, 逆转录和PCR在同一反应体系中进行, 反应过程中无需添加试剂, 无需打开管盖, 在避免污染的同时提高了检测灵敏度和实验效率。本试剂中包括高效逆转录酶、新型热启动DNA聚合酶, 同时包含适用于逆转录和PCR扩增的反应缓冲液。高效逆转录酶RNase H活性缺失, 减少了逆转录反应中RNA的降解。该逆转录酶逆转录效率高, 可对少量RNA模板进行良好的逆转录反应。PCR反应使用的快速热启动DNA聚合酶具有扩增效率高、特异性强的优良性能。独特的缓冲体系使逆转录酶和聚合酶同时发挥最大功效。使用本试剂扩增得到的目的产物3'端附有一个“A”碱基, 可直接用于T/A克隆。

试剂组成:

1. 5×SuperRT OneStep Buffer
2. 25×Enzyme Mix
3. 10×Enhancer

使用方法:

1. 将RNA模板、引物、5×SuperRT OneStep Buffer、Enzyme Mix、10×Enhancer和RNase-Free Water溶解并置于冰上备用。
2. 根据以下表格配制反应体系:

试剂	25μL体系	50μL体系	终浓度
5×SuperRT One Step Buffer	5μL	10μL	1×
Primer 1 10uM	0.5~1μL	1~2μL	0.2~0.4μM
Primer 2 10uM	0.5~1μL	1~2μL	0.2~0.4μM
Enzyme Mix	1μL	2 μL	
10×Enhancer	2.5μL	5μL	1×
RNA Template	0.5-2μL	1-4μL	
DEPC 处理水			
Total volume	25μL	50μL	

注意: 引物浓度请以终浓度0.1-1.0μM作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下, 可提高引物的浓度; 发生非特异性反应时, 可降低引物浓度, 由此优化反应体系。

3. 涡旋震荡混匀, 短暂离心, 将溶液收集到管底。
4. 将热循环仪预热到45°C, 将PCR管置于热循环仪中, 进行RT-PCR反应。
5. 反应结束后取5μl反应产物, 加入适量上样缓冲液后进行电泳检测结果。



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

反应条件:

反转录: 50°C 15 min

变 性: 95°C 2.5 min

变 性: 95°C 20s

退 火: 50-65°C 25s

延 伸: 72°C 60s/kb

72°C 10min

4°C Hold

} 35~50 个循环

注意:

1. 一般PCR实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 T_m 低5°C, 退火时间一般为20-30秒, 无法得到理想的扩增效率时, 适当降低退火温度; 发生非特异性反应时, 提高退火温度, 由此优化反应条件。
2. 延伸时间根据扩增的片段大小设定, 本产品中包含的DNA Polymerase扩增效率为1kb/60s。
3. 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。循环次数太少, 扩增量不足; 循环次数多, 错配机率会增加, 非特异性背景严重。所以, 在保证产物得率的前提下, 应尽量减少循环次数。



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>