

# Evo M-MLV一步法RT-PCR试剂盒

## Evo M-MLV One Step RT-PCR Kit

Code No. AG11606

<b>包装量:</b>	50 rxns / 50 $\mu$ l
<b>保存温度:</b>	-20 $^{\circ}$ C

### 产品概述

本制品是具有高效扩增能力的一步法RT-PCR试剂盒，RNA—cDNA—PCR反应操作在同一个反应体系中连续完成，操作简便、快捷，反应过程中不需要再添加任何试剂，可有效降低污染风险。本制品使用了延伸能力较强的Evo M-MLV反转录酶，整合热启动Pro Taq HS的优越性能，大大提高了本制品的扩增性能。

为了获得更好的扩增效果，本制品配有两种反应Buffer：2X One-Step Reaction Solution A 和2X One-Step Reaction Solution B。一般情况下先使用2X One-Step Reaction Solution A进行RT-PCR扩增，如果不能得到理想的扩增结果，可替换成2X One-Step Reaction Solution B进行尝试。

### 保存

保存温度：-20 $^{\circ}$ C保存

运输温度：干冰运输或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

### 产品组成

One Step Enzyme Mix <sup>*1</sup>	100 $\mu$ l
2X One-Step Reaction Solution A <sup>*2</sup>	625 $\mu$ l X 2 pcs
2X One-Step Reaction Solution B <sup>*2</sup>	625 $\mu$ l X 2 pcs
RNase free water	1 ml X 2 pcs

\*1: 含有Evo M-MLV RTase, RNase Inhibitor, Pro Taq HS DNA Polymerase。

\*2: 含有dNTP Mixture与反应 Buffer。

### 注意事项

1. 防止RNase污染，请保持实验区域洁净，实验所用的离心管、枪头等耗材均需RNase-free级别。
2. 使用One Step Enzyme Mix 前应先离心，将所有的酶液收集至离心管底部，减少损失，然后用移液器轻柔混匀，避免起泡，酶保存液中甘油浓度较高，应缓慢吸取。
3. 2X One-Step Reaction Solution A和2X One-Step Reaction Solution B 使用前用Vortex 充分混匀并离心后使用。
4. 反应液需在冰上配制，本制品使用完后需尽快放回-20 $^{\circ}$ C保存。
5. 需要同时进行数次反应时，应先配制各种试剂的混合液，然后分装到每个反应管中。
6. 使用本制品进行反转录反应时必须使用特异性引物，Random Primer、Oligo dT Primer 不能使用。

## 实验操作

1. 下表配制相应的RT-PCR反应液：

RT-PCR反应体系（50  $\mu$ l）

组分名称	终浓度	加入量
One Step Enzyme Mix	-	2 $\mu$ l
2X One-Step Reaction Solution A or 2X One-Step Reaction Solution B	-	25 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ M <sup>2</sup>	2 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ M <sup>2</sup>	2 $\mu$ l
Total RNA <sup>*1</sup>	$\leq 1 \mu$ g	-
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

\*1: Total RNA量可根据需要添加。在50  $\mu$ l 反转录体系中，最多使用1  $\mu$ g Total RNA。

\*2: 通常引物终浓度为0.4  $\mu$ M 可以得到较好的结果，也可根据具体实验情况在0.2~1.0  $\mu$ M 范围内调整引物浓度。

2. 配制完反应体系后，按照下列反应进行RT-PCR<sup>\*1</sup>

步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C <sup>*2</sup>	30 min <sup>*3</sup>	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	} 25-35
退火	56°C <sup>*4</sup>	30 sec	
延伸	72°C	1 min/kb	
最终延伸	72°C	2-5 min	1

\*1: 可根据需要选择两步法PCR扩增。

\*2: 使用50°C进行反转录可以提高反应特异性，也可根据具体实验情况在37~50°C范围内调整反转录反应温度。

\*3: 通常反转录反应时间为30min时可以得到较好的结果，也可根据具体实验情况在15~45 min范围内调整反转录时间。

\*4: 退火温度主要取决于上下游引物的T<sub>m</sub>值，通常可按照T<sub>m</sub>  $\pm$  5°C 设定。

## 结果检测

反应结束后，取适量反应产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.