

Evo M-MLV一步法RT-PCR试剂盒(含染料)

Evo M-MLV One Step RT-PCR Kit (dye plus)

Code No. AG11607

包装量: 50 rxns / 50 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是具有高效扩增能力的一步法 RT-PCR 试剂盒，反转录及 PCR 反应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，同时反应液中含有电泳所需染料，反应后可直接进行电泳检测。本产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，大大提高了本产品的扩增性能。

保存及运输

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 ^{*1}	100 μ l
2X One-Step Reaction Solution (dye plus) ^{*2}	625 μ l \times 2 pcs
RNase free water	1 ml \times 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. 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，以避免 RNase 污染。
2. One Step Enzyme Mix 甘油浓度较高，使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀（避免起泡），然后再进行使用。
3. 2X One-Step Reaction Solution(dye plus) 使用前请于冰上充分融化，轻柔混匀，短暂离心后再使用。
4. 反应液需在冰上配制，本产品使用完后需尽快放回 -20 $^{\circ}$ C 保存。
5. 使用本产品进行反转录反应时必须使用特异性引物，不能使用 Random Primer、Oligo dT Primer。

实验操作

- 1、按下表配制相应的 RT-PCR 反应液：

RT-PCR反应体系（50 μ l）

组分名称	终浓度	加入量
One Step Enzyme Mix	-	2 μ l
2X One-Step Reaction Solution (dye plus)	1x	25 μ l
Primer F (10 μ M)	0.4 μ M ^{*2}	2 μ l
Primer R (10 μ M)	0.4 μ M ^{*2}	2 μ l
Total RNA ^{*1}	\leq 1 μ g	-
RNase free water	-	Up to 50 μ l



- *1: Total RNA 量可根据需要添加。在 50 μ l 反转录体系中, 建议 Total RNA 用量不超过 1 μ g。
- *2: 通常引物终浓度为 0.4 μ 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 μ 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^{*1}

步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C ^{*2}	30 min ^{*3}	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	} 25~35 ^{*5}
退火	56°C ^{*4}	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 (两步法 PCR 反应程序可参考附录)。
- *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 30 min 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 Tm 值, 通常可按照 Tm \pm 5°C 设定。
- *5: 通常在 30 个循环数就可得到较好的结果, 也可根据实际情况, 在 25~35 个循环数内调整。

详细信息请查阅 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.

➤ 结果检测

反应结束后, 取 2~5 μ l 反应产物直接进行琼脂糖凝胶电泳检测。

➤ 附录

两步法 PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C	30 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	} 25~35
延伸	68°C	1 min / kb	
最终延伸	72°C	2~5 min	