

Evo M-MLV 反转录试剂盒 (用于 qPCR)

Evo M-MLV RT Kit for qPCR

Code No. AG11707

包装量: 200 rxns / 10 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是 Real Time RT-PCR 专用的反转录试剂。使用了延伸能力较强的 *Evo M-MLV* 反转录酶，可以在短时间内高效合成 cDNA。合成得到的 cDNA 兼容嵌合法和探针法 qPCR，可根据实验目的，配合相应的试剂进行高性能的基因分析。

保存及运输

保存温度：-20 $^{\circ}$ C 保存

运输温度：干冰运输或 -20 $^{\circ}$ C 冰袋运输

产品组成

<i>Evo M-MLV</i> RTase Enzyme Mix ^{*1}	100 μ l
5X RTase Reaction Buffer Mix II ^{*2}	400 μ l
Oligo dT (18T) Primer (50 μ M)	100 μ l
Random 6 mers Primer (100 μ M)	400 μ l
RNase free water	1 ml X 2 pcs

*1: 含有 *Evo M-MLV* RTase, RNase Inhibitor。

*2: 含有 dNTP。

注意事项

- *Evo M-MLV* RTase Enzyme Mix 使用前先离心，将所有的酶液收集至离心管底部，然后在进行使用，避免酶量损失。
- 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。
- 所有反应混合液需要在冰上配制。

实验操作

反转录反应

按照下表内容进行反应液配制，进行反转录反应。

组分名称	加入量
5X RTase Reaction Buffer Mix II	2 μ l
<i>Evo M-MLV</i> RTase Enzyme Mix	0.5 μ l
Oligo dT (18T) Primer (50 μ M) ^{*1}	0.5 μ l
Random 6 mers Primer (100 μ M) ^{*1}	0.5 μ l
Total RNA ^{*3}	-
RNase free water	up to 10 μ l

反应条件: 37 °C⁴ 15 min
 85 °C 5 sec
 4 °C Hold⁵

- *1: 如果使用 SYBR Green qPCR 法, Random 6 mers Primer (100 μM) 用量为 0.5 μl; 如果使用探针 qPCR 法, Random 6 mers Primer (100 μM) 的用量为 2 μl。也可以不使用引物混合物, 而选择单独引物, 引物使用量如下:
 Oligo dT (18T) Primer —— 25 pmol / 10 μl 反应体系
 Random 6 mers Primer —— 50 pmol / 10 μl 反应体系 (for SYBR Green qPCR 法)
 Random 6 mers Primer —— 200 pmol / 10 μl 反应体系 (for 探针 qPCR 法)
 Gene Specific Primer —— 2.5 pmol / 10 μl 反应体系 (可在 1~5 pmol 之间进行调整)
- *2: 配制反转录反应时, 为了保证反应液配制的准确性, 可将各组分先配制为 Master Mix, 再分装到反应管中, 最后加入 RNA 样品。反转录反应体系可以根据需要相应调整体积。
- *3: RNA 量可根据需要添加。在 10 μl 反转录体系中, 使用 SYBR Green qPCR 法时, 最多使用 500 ng Total RNA; 使用探针法时, 最多使用 1 μg Total RNA。
- *4: 当使用 Gene Specific Primer 时, 可以将反应条件设置为 42°C 15 min; 如果为降低非特异性扩增, 可将反应温度升高到 50°C。
- *5: 若反应产物立即用于后续 qPCR 反应, 可暂放于 4°C 或冰上; 如短期保存建议放置于 -20°C, 如需长期保存建议放置于 -80°C。

定量PCR反应

从上述得到的反应液可直接用于后续定量 PCR 反应, 其加入量不要超过定量 PCR 反应体积的 1/10 (V/V)。

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.