

Evo M-MLV 反转录试剂盒 II (含去除 gDNA 试剂, 用于 qPCR)

Evo M-MLV RT Kit with gDNA Clean for qPCR II

Code No. AG11711

包装量: 100 rxns / 20 μ l
保存温度: -20 $^{\circ}$ C

产品概述

本产品是利用 *M-MLV* 反转录聚合酶的反转录试剂盒, cDNA 产物可直接用于 qPCR 检测。本产品是在 *Evo M-MLV* RT Kit with gDNA Clean for qPCR (Code. AG11705) 的基础上, 将引物混合制成 RT Primer Mix, 方便使用, 可减少实验误差。该试剂盒使用了具有较强 DNA 分解活性的 gDNA Clean Reagent, 通过 42 $^{\circ}$ C, 2 min 即可除去基因组 DNA, 有效的减少基因组 DNA 对 cDNA 的定量分析造成的影响。使用本制品合成得到的 cDNA 适用于嵌合法和探针法 qPCR 分析。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C
 运输温度: 干冰 或者 -20 $^{\circ}$ C 冰袋

产品组成

gDNA Clean Reagent	100 μ l
5X gDNA Clean Buffer	200 μ l
<i>Evo M-MLV</i> RTase Enzyme Mix *1	100 μ l
5X RTase Reaction Buffer Mix I ²	400 μ l
RT Primer Mix ³	100 μ l
RNase free water	1 ml x 2 pc

*1: 含有 RNase Inhibitor.

*2: 含有 dNTP.

*3: 含有 Oligo dT (18T) Primer 与 Random 6 mers Primer.

注意事项

1. gDNA Clean Reagent 与 *Evo M-MLV* RTase 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, 并用移液枪轻轻吸打混匀, 过程中尽量避免起泡, 然后再进行使用。
2. 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。
3. 所有反应混合液需要在冰上配制。
4. cDNA 产物适用于定量 PCR 反应, 不适用于长片段基因调取, 如有长片段扩增需要, 可使用 *Evo M-MLV* RT for PCR Kit (Code. AG11603) 进行操作。

实验操作

使用本试剂盒进行反转录时主要包括 2 个步骤: 去除基因组 DNA、反转录反应。

去除基因组 DNA:

1) 按照下表内容配制好反应液, 进行基因组 DNA 去除反应;

组分名称	加入量
gDNA Clean Reagent	1 μ l
5X gDNA Clean Buffer	2 μ l
Total RNA ^{*1}	-
RNase free water	up to 10 μ l

反应条件: 42 °C 2 min
4 °C

*1: RNA量可根据需要添加。在20 μl反转录体系中, 使用 SYBR Green qPCR 法时, 建议最多使用1 μg total RNA; 使用探针法时, 建议最多使用2 μg total RNA。

反转录反应

2) 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
步骤1) 反应液	10 μl
<i>Evo M-MLV</i> RTase Enzyme Mix	1 μl
RT Primer Mix*1	1 μl
5X RTase Reaction Buffer Mix I	4 μl
RNase free water	4 μl
Total	20 μl ³

反应条件: 37 °C⁴ 15 min
85 °C 5 sec
4 °C

*1: 如果不使用RT Primer Mix, 而选择Gene Specific Primer引物, 推荐引物用量为5 pmol / 20 μl 反应体系, 可根据实验结果在5 pmol -10 pmol 之间进行调整。

*2: 配制反转录反应时, 这几种溶液可以预先配制成Master Mix, 再分装10 μl到上述步骤1) 反应液中。如果不配制Master Mix, 向步骤1) 反应液中添加试剂时, 要先加入RNase free water、5X RTase Reaction Buffer Mix I, 混合均匀, 目的是使得gDNA Clean Reagent活性受到充分抑制, 之后再添加RT Primer Mix、*Evo M-MLV* RTase Enzyme Mix 溶液, 轻轻混匀后进行反转录反应。

*3: 反转录反应体系可以根据需要进行调整。

*4: 当使用Gene Specific Primer时, 可以将反应条件设置为42 °C 15 min; 如有非特异扩增, 可将反应温度升高到50 °C。

定量PCR反应

3) 从步骤2) 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.