

Evo M-MLV 反转录预混型示踪试剂盒 (含去除gDNA试剂, 用于qPCR, 黄色)

Evo M-MLV RT Mix Tracking Kit with gDNA Clean for qPCR (Yellow)

Code No. AG11734

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。该制品中5X gDNA Clean Reaction Mix可去除残留的基因组DNA, 保证定量结果的准确性; 5X Evo M-MLV RT Reaction Mix (Yellow) 含有黄色染料, 能实现反转录液可视化, 避免漏加试剂, 且该试剂包含反转录反应所需的所有组分, 优化的体系, 使反转录产物兼容嵌合法和探针法 qPCR分析, 能够进行高效的基因表达分析。

5X Evo M-MLV RT Reaction Mix (Yellow) 含有黄色染料, 反转录获得的cDNA呈现黄色, 可搭配不同定量试剂使用:

- ① 可以搭配添加了蓝色染料的SYBR® Green Premix Pro Taq HS qPCR Tracking Kit (Code. AG11733) 使用, 避免移液错误, 实现模板移液过程可视化: 将本制品反转录获得的cDNA (黄色) 加入至蓝色的 qPCR 反应液中, 溶液会变成绿色, 可根据颜色变化确认是否添加模板, 有利于大量样品的加样, 减少了误操作概率。
- ② 可搭配本公司其他的定量试剂使用【如SYBR® Green Premix Pro Taq HS qPCR Kit (Code. AG11701)】, 当黄色cDNA加入至无色定量试剂中, 会变成浅黄色, 可实现移液可视化。但若cDNA原液加入量较少, 颜色变化不明显, 可能会无法辨别。
- ③ 其他公司定量产品搭配本品使用性能未经验证, 如需使用, 请先测试性能。

保存

保存温度: -20 $^{\circ}$ C

运输温度: 干冰或者-20 $^{\circ}$ C冰袋运输

产品组成

5X gDNA Clean Reaction Mix	200 μ l
5X Evo M-MLV RT Reaction Mix (Yellow) **	400 μ l
RNase free water	1 ml x 2 pc

**1: 含有Evo M-MLV RTase、RNase Inhibitor、dNTPs、Oligo dT (18T) Primer 与Random 6 mers Primer。

注意事项

1. 5X gDNA Clean Reaction Mix与5X Evo M-MLV RT Reaction Mix (Yellow) 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, 可使用本公司其他相关产品。

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
5X gDNA Clean Reaction Mix	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 μ l反转录体系中，使用 SYBR Green qPCR 法时，建议最多使用1 μ g total RNA；使用探针法时，建议最多使用2 μ g 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 μ l
5X <i>Evo M-MLV</i> RT Reaction Mix (Yellow)	4 μ l
RNase free water	6 μ l
Total	20 μ l ^{*2}

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn

反应条件：37 °C 15 min
85 °C 5 sec
4 °C

*2: 如果样本量大，配制反转录反应时，这两种溶液可以预先配制成 Master Mix，再分装10 μ l到上述步骤1) 的10 μ l反应液中，轻轻混匀后进行反转录反应，也可将5X *Evo M-MLV* RT Reaction Mix (Yellow) 及RNase free water分别添加至上述步骤1) 的10 μ l反应液中。

*3: 反转录反应体系可以根据需要进行扩大。

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)。