



# Evo M-MLV 一步法 RT-PCR 试剂盒 II (含染料)

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

Code No. AG11620

**包装量:** 50 rxns / 50  $\mu$ l  
**保存温度:** -20°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，整合了反应性能优越的 *Evo M-MLV* 反转录酶和 *Pro Taq* HS DNA 聚合酶，配制成 Premix 型的 One Step Enzyme Mix II，反转录和 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。

本产品对不同模板的适用性广，扩增效率高，检测灵敏度高，更便于对 RNA 样本进行扩增分析。同时，本产品中添加电泳所需染料，反应后可直接进行电泳检测，能够更快得到检测结果。

## 保存及运输

保存温度: -20°C 保存

运输温度: 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

## 产品组成

One Step Enzyme Mix II	100 $\mu$ l
2X One-Step Reaction Solution II (dye plus)	625 $\mu$ l X 2 pcs
RNase free water	1 ml X 2 pcs

## 实验操作

### 1. 配制反应体系

按照下表在冰上配制反应液:

组分名称	反应终浓度	50 $\mu$ l 体系
2X One-Step Reaction Solution II (dye plus)	1X	25 $\mu$ l
One Step Enzyme Mix II	-	2 $\mu$ l
Primer F (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ M <sup>1</sup>	2 $\mu$ l
Primer R (10 $\mu$ M)	0.4 $\mu$ M <sup>1</sup>	2 $\mu$ l
Total RNA <sup>2</sup>	$\leq$ 1 $\mu$ g	-
RNase free water	-	Up to 50 $\mu$ l

\*1: 引物通常使用终浓度为 0.4  $\mu$ M, 可根据实际情况在 0.2 ~ 1.0  $\mu$ M 范围内调整。

\*2: 在 50  $\mu$ l 反转录体系中, 建议 Total RNA 用量不超过 1  $\mu$ g。

## 2. 反应条件 (以三步法扩增为例)\*1、\*2)

将含有反应液的 PCR 管放置于 PCR 仪中, 然后按照下表条件进行 PCR 反应:

步骤	温度	时间	循环数
反转录	50°C <sup>*3</sup>	30 min <sup>*4</sup>	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	} 30 ~ 40 <sup>*5</sup>
退火	56°C	30 sec	
延伸	72°C	1 min/kb	
最终延伸	72°C	5 min	1

\*1: 建议首先采用上表中推荐的三步法 PCR 反应程序, 如果得不到良好的实验结果, 再优化反应条件。

\*2: 当引物 Tm 值较高或三步法 PCR 扩增结果不好时, 可尝试两步法 PCR 扩增 (两步法 PCR 反应程序可参考附录)。

\*3: 通常反转录反应温度为 50°C 时可以提高反应特异性, 也可根据实际情况在 37 ~ 50°C 范围内调整。

\*4: 通常反转录反应时间为 30 min 时可以得到较好的结果, 也可根据实际情况在 15 ~ 45 min 范围内调整。

\*5: 扩增条带较弱或模板量较低时, 可适当增加循环数, 但不建议超过 40 个循环。

## ➤ 结果检测

反应结束后, 取 2 ~ 5  $\mu$ l PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测产物浓度及特异性。

## ➤ 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	} 30 ~ 40
延伸	68°C	1 min/kb	
最终延伸	72°C	10 min	1

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.