

Evo Super M-MLV 一步法 RT-PCR 预混液 (含染料)

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

Code No. AG11625

包装量: 50 rxns / 50 μ l
保存温度: -20°C

产品概述

本产品是以 RNA 为模板进行一步法 RT-PCR 的试剂盒，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。

本产品经过优化实现了逆转录酶，扩增酶及反应 buffer 一管式操作，操作简单方便。本产品整合了反应性能优越的 *Evo Super M-MLV* 反转录酶、*Pro Taq HS* DNA 聚合酶及辅助蛋白，并优化产品中 buffer 组分，使得本产品具有对不同模板的适用性广，扩增效率高，扩增产量高，检测灵敏度高等特点，更便于对 RNA 样本进行扩增分析。

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

2X One Step RT-PCR Mix (dye plus)	1.25 ml
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 μ l 体系
2X One Step RT-PCR Mix (dye plus)	1X	25 μ l
Primer F (10 μ M)	0.4 μ M ^{*1}	2 μ l
Primer R (10 μ M)	0.4 μ M ^{*1}	2 μ l
Total RNA ^{*2}	$\leq 1 \mu$ g	-
RNase free water	-	Up to 50 μ l

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

*2: 在 50 μ l 反转录体系中，建议 Total RNA 用量不超过 1 μ 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	55°C ^{*3}	30 min ^{*4}	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	94°C	30 sec	} 30 ~ 40 ^{*5}
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 55°C 时可以提高反应特异性，也可根据实际情况在 50 ~ 60°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 ~ 30 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 μl 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 RT-PCR 反应程序

步骤	温度	时间	循环数
反转录	55°C	30 min	1
预变性	94°C	2 min	1
变性	98°C	10 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

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.