



Reverse Transcription reagent Kit (M-MLV)

cDNA 制备反转录试剂盒

产品简介

本产品中 M-MLV(莫洛尼鼠白血病病毒)逆转录酶是通过基因重组技术克隆表达的一种重组 DNA 聚合酶,可从单链 RNA, DNA 或 RNA: DNA 杂合体合成互补的 DNA 链。与 AMV 相比, M-MLV 缺乏 DNA 核酸内切酶活性,而 RNase H 活性较低。M-MLV 在 37° C 时具有最佳活性,延伸能力强,可用于合成最大 7 kb 的 cDNA。

本产品以最恰当比例混合的 Primer 混合液,对于不同长度的目标片段,只需要 15-20 分钟就能够对目标片段进行高效率的逆转录反应。

本产品所含成分对于 Real-time PCR 反应体系无影响,反应曲线表现良好。

产品组成

组份 编号	FSF0028 Reverse Transcription reagent Kit (M-MLV) cDNA 制备反转录试剂盒		
	货号编号	产品组成	规格
组分 A:		Enzyme Mix (M-MLV+RNase Inhibitor)	100ul
组分 B:		Primer Mix (Random Primer+Oligo(dT) Primer)	100ul
组分 C:		RNase -free diH ₂ O	1ml×2
组分 D:		5xReaction Buffer	400ul
使用说明书		1 份	

储存及运输条件: -20℃ 保存; 干冰运输。

质量控制:经检测无外源核酸酶活性。

※**活性定义:**以 Poly (A) . Oligo (dT) 为模板/引物,在 37℃、10 分钟条件下,掺入 1 nmol 的 [3H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

※**活性检测条件:** 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 40 mM KCl, 6 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.5 mM [3H]dTTP, 0.1 mM poly(A), 0.1 mM oligo(dT)12-18, 0.1 mg/ml BSA, M-MLV, Total volume 50 μl, 10 min at 37℃。

使用方法

1. 去除基因组 DNA 反应。

去除 RNA 溶液中的基因组 DNA,可参考使用本公司产品 Recombinant DNase I (Cat.#FS0359);若确定所用 RNA 已去除基因组 DNA,则直接进行下一步。

2. RNA 的变性。

把 RNA 在 65℃条件下进行温浴 5 分钟,立即置于冰上冷却。

[注]:温浴对于容易形成高级结构的 RNA 可以提高逆转录的效率。

立即置于冰上冷却防止 RNA 缓慢冷却时复性,重新形成高级结构。

温浴时请勿加入酶和 5xReaction Buffer



3. 逆转录体系的配制。

按如下成分于冰上配制反应混合液，为了保证反应液配制的准确性，进行各项反应时，应先按反应数+2 的量配制 Master Mix，然后再分装到每个反应管中，最后加入 RNA 样品。

体系成分	用量
RNA	0.5pg-1ug
Enzyme Mix (M-MLV+RNase Inhibitor)	0.5 μl
Primer Mix (Random Primer+Oligo(dT) Primer)	0.5 μl
RNase -free diH ₂ O	Up to 10 μl
5xReaction Buffer	2 μl

[注]：配置体系混匀后简短离心，以使反应液集中于反应管底。

反应体系可按需求相应放大。

Random 和 Oligo (dT) Primer 同时使用，可有效地将全长 mRNA 反转录成 cDNA。

使用单引物进行反转录时，建议 10 μl 体系使用量分别为：

Random Primer 50pmol,

Oligo (dT) Primer 25pmol,

Gene specific primer 1pmol.

4. 逆转录反应。

在 37℃ 条件下，进行 15 min 的逆转录反应。

在使用基因特异性引物的情况下，特别是使用相同序列的逆转录引物和 PCR 引物的时候，在逆转录反应时的非特异性退火是导致 PCR 非特异性扩增产物产生的原因。此时，提高逆转录反应的温度至 50-55℃ 可得到改善。

5. 逆转录酶的失活。

在 85℃ 条件下，进行 5 sec 的酶失活反应。

反应结束之后，请于 4℃ 或者 -20℃ 条件下保存。在进行后续的 Realtime PCR 反应时，根据实际进行反应液的添加，添加体积一般不应超过 PCR 反应体系的 20%。过量的添加逆转录反应液，会降低 PCR 的反应效率，不能进行准确的定量。

五、注意事项

- 1) 分取试剂时务必使用新的枪头 (Tip)，以防止样品间污染，同时，要使用精确、量程适合的移液枪。
- 2) 当同时需要进行数次反应时，应先配制各种试剂的混合液，然后再分装到每个反应管中，可使所取的试剂体积更准确，减少试剂损失，同时也可以减少实验操作或实验之间产生的误差。
- 3) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FSF0007	2×FSBR Green(SYBR Green) qPCR Mix	1ml
FSF0011	2×Taq PCR Master mix	1ml
FSF0013	2×HotStart Taq PCR Master mix	1ml
FSF0015	2×HiFi PCR Master mix	1ml
FSF0017	2×Faster Taq PCR Master mix	1ml



FSF0022	DNA Marker 1 (100-600bp)	250ul/50T
FSF0023	DL2000 (100-2000bp)	250ul/50T
FSF0024	100bp DNA Marker (100-1500bp)	250ul/50T
FSF0025	DNA Marker v (500-5000bp)	250ul/50T
FSF0026	DL15000 (250-15000bp)	250ul/50T
FSF0027	50bp DNA Marker(50-600bp)	250ul/50T
FS0361	Agarose, Molecular Biology Grade 琼脂糖	100g
FS0366	SYBR Green I (10,000× in DMSO) 核酸凝胶染料	100μl
FS0369	FSRed Nucleic Acid Gel Stain 核酸染料 (10,000× 水溶液)	500μl
FS0370	FSGreen Nucleic Acid Gel Stain 核酸染料 (10,000× 水溶液)	500μl

