



通用型 RT-PCR 试剂盒

产品简介:

本试剂盒适用于各种动、植物及病毒 RNA 的 PCR 检测, 反转录反应体系为 20 μ l, PCR 反应体系 50 μ l, 通用引物为 β -actin (318bp) / (540bp), 用户在使用此试剂盒之前请详细阅读此说明书。

组成:

		TER010-1	TER010-2
成分	浓度	25T	50T
溶液 A (OligdT(18))	10 μ M	25 μ l	50 μ l
溶液 B (dNTPs)	10 mM	50 μ l	100 μ l
溶液 C (Taq 酶)	2 U/ μ l	25 μ l	50 μ l
溶液 D (5 \times RT buffer)	5 \times	100 μ l	200 μ l
溶液 E (酶混合液)	50U/ μ l	25 μ l	50 μ l
溶液 F (10 \times PCR buffer)		125 μ l	250 μ l
溶液 G (DEPC-ddH ₂ O)		1.5ml	1.5 ml \times 2
溶液 H (通用引物, 含上、下游引物)	10 μ M	25 μ l	50 μ l
溶液 I (Rodom Primers(6 聚体引物))	10 μ M	25 μ l	50 μ l

操作说明

1、RT 反应

反应体系	操作步骤
溶液 A (OligdT(18)或 6 聚体引物) 1 μ l 溶液 B (dNTPs) 1 μ l 溶液 D (5 \times RT buffer) 4 μ l 溶液 E (酶混合液) 1 μ l 1-5 μ g Total RNA 或 0.2-1 μ g poly(A)+m RNA X μ l 用溶液 G 补足 20 μ l	1、按照左表加入 20 μ l 体系。 2、轻轻混匀上述体系, 42 $^{\circ}$ C, 60min。 3、95 $^{\circ}$ C 5min, 4 $^{\circ}$ C 1-5min, 可接着进行如下操作也可迅速放入 -20 $^{\circ}$ C 长期冻存。

2、PCR 反应

反应体系	操作步骤
RT 反应产物 2-4 μ l 溶液 F (10 \times PCR buffer) 5 μ l 溶液 B (dNTPs) 1 μ l 上游引物 (自备) 50 pmol 下游引物 (自备) 50 pmol 溶液 H (通用引物) 1 μ l(内参引物) 溶液 C (Taq 酶) 1 μ l 用溶液 G 补足 50 μ l	1、按照左表加入 50 μ l 体系。 2、阳性对照推荐扩增参数: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5min 94 $^{\circ}$ C 变性 30s 55 $^{\circ}$ C 复性 30s 扩增 30 循环 72 $^{\circ}$ C 延伸 30s 72 $^{\circ}$ C 再延伸 5min 3、保存 4 $^{\circ}$ C

注意事项:

- 1、 储存条件: -20 $^{\circ}$ C 冻存, 至少稳定 18 个月。
- 2、 用户所使用离心管、吸头均需经过 DEPC 处理并高压灭菌。
- 3、 酶混和液含逆转录酶、RNA 酶抑制剂。
- 4、 总 RNA 若有轻微降解, 目的基因同样能扩增出来。
- 5、 所带 PCR 引物能扩增人、小鼠 β -actin 基因。
- 6、 用前各组分低速离心, 避免挂壁损失。