

RT-PCR Mix for qPCR (预混型逆转录试剂盒)

货号: R1031

产品说明

RT-PCR Mix for qPCR 是预混型逆转录反应试剂盒, 操作简便, 可快速高效完成逆转录反应。其中 RT-PCR Enzyme Mix 含有高效逆转录酶和热敏型 DNase, 一步完成基因组 DNA 的清除以及 RNA 的逆转录反应, 5X RT-PCR Buffer 包含逆转录反应所需的其他组分, 无需分步多次加样, 降低了样品污染的风险。同时, 本试剂盒配备了 Control Mix, 用于阴性对照反应, 检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。本试剂盒的逆转录产物对染料法和探针法荧光定量 PCR 反应均有很好的兼容性, 可进行精准的基因表达分析。

产品组分

组分	R1031 (100 次)
RT-PCR Enzyme Mix	100 μ l
5X RT-PCR Buffer	400 μ l
Control Mix	20 μ l
RNase-free ddH ₂ O	1 ml \times 2

保存条件

各组分均-20 $^{\circ}$ C保存, 并避免反复冻融。

适用范围

第一链 cDNA 合成

注意事项

- 本品含有热敏型 DNase, 请于冰上使用本品各组分。
- 为保证成分均匀, 请将 RT-PCR Enzyme Mix、5X RT-PCR Buffer 及 Control Mix 分别瞬时离心、吹打混匀后再吸取使用。
- 在操作过程中, 注意防止引入 RNase 导致 RNA 降解。RNA 最好保存于-70 $^{\circ}$ C, 避免

反复冻融。

- cDNA 产物应置于-20 $^{\circ}$ C或以下保存, 避免反复冻融。

操作步骤

1. 配制反应体系

按以下体系, 在冰浴的无菌无酶离心管中配制反应混合液:

组分	用量
5X RT-PCR Buffer	4 μ l
RT-PCR Enzyme Mix	1 μ l
RNA	1pg-1 μ g
RNase-free ddH ₂ O	补足至 20 μ l

阴性对照反应 (可选)

即不加逆转录酶的反应, 产物用于在 qPCR 中作为阴性对照, 检验模板 RNA 中是否有基因组 DNA 残留

按以下体系, 在冰浴的无菌无酶离心管中配制反应混合液:

组分	用量
5X RT-PCR Buffer	4 μ l
Control Mix	1 μ l
RNA	1pg-1 μ g
RNase-free ddH ₂ O	补足至 20 μ l

2. 进行逆转录反应

将上述混合液吹打混匀, 瞬时离心收集至管底。按以下程序, 在 PCR 仪中进行反应:

温度	时间
50 $^{\circ}$ C	15 min
85 $^{\circ}$ C	5 sec

3. qPCR 反应及 cDNA 保存

cDNA 产物可稀释后立即进行染料法或探针法 qPCR 反应。若使用未稀释的 cDNA 原液,

则体积不能超过反应体系的 1/10，以避免抑制反应效率。长期保存 cDNA 产物应于-20℃ 或以下环境中，并避免反复冻融。

本品仅供科学研究使用。