



# M-MLV 4 One-Step RT-PCR Kit

## 产品信息:

组成	MT423-01
2× One-Step Reaction mix	625ul×2
M-MLV 4 Enzyme mix	100μl
H <sub>2</sub> O(RNase free)	1ml ×2

储存条件: -20℃保存两年。

## 产品简介:

M-MLV 4 One-Step RT-PCR Kit 专为以 RNA 为模板的终点法 PCR 检测而设计。使用基因特异引物 (GSP), 逆转录和 PCR 反应在一管内完成, 不需要额外的开管/移液操作, 大大提高了检测通量, 并降低了污染的风险。经过优化的缓冲体系, M-MLV 4 One-Step RT-PCR Kit 的检测灵敏度可达到 1 ng 总 RNA, 并可扩增长达 12kb 的片段。试剂盒以便捷的 Master Mix 形式提供。

2 × One Step Mix 包含优化的缓冲体系和 dNTP; Enzyme Mix 包含比例优化的 M-MLV 4、RNase inhibitor 以及 Hot start DNA Polymerase。

## 适用范围:

高拷贝、低拷贝基因检测。

高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。

## 使用方法:

1. 在RNase free 离心管中配制如下混合液

2× One-Step Reaction mix	25μl
M-MLV 4 Enzyme mix	2μl
GSP Forward(10μM)	2μl
GSP Reverse(10μM)	2μl
Template RNA	Total RNA:1ng-1μg mRNA:>0.01ng
H <sub>2</sub> O(RNase free) to final volume	Up to 50μl

2. 反应条件

50℃ <sup>a</sup>	30min	30-35cycle
94℃	3min	
94℃	30s	
55-72℃ <sup>b</sup>	30s	
72℃	0.5-1min/kb <sup>c</sup>	
72℃	5-10min	

a.如果模板具有复杂二级结构或高GC区域, 可将反应温度提高至60℃, 有助于提高产量;

b.退火温度需要根据引物T<sub>m</sub>调整;

c.对于<5kb的片段, 延伸时间最少设置为0.5min/kb, 对于>5kb的片段, 延伸时间最少设置为1min/kb。

## 注意事项:

- 1.防止RNase污染, 请保持实验区洁净;
- 2.操作时需要戴干净的手套、口罩;
- 3.实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证RNase free。

BM190215