

描述: 本试剂盒采用稳定高效的反转录预混体系 5xFast RT MasterMix 进行 RNA 的反转录反应, 使用时只需加入模板、引物和 RNase Free H₂O 即可, 大大简化了操作过程、提高了效率、减少了操作过程中的人为误差。

该预混体系包含快速 MLV7 反转录酶、dNTP、反应 Buffer 和 RNase Inhibitor。该试剂盒采用的 MLV7 反转录酶具有以下特性: RNase H 活性缺失, 从而避免反转录过程中降解 RNA; 经过突变文库筛选, 使得其热稳定性更强, 可耐受 50°C 高温反应, 在 60°C 条件下仍然具有 30% 以上活性, 利于打开 RNA 二级结构, 从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能; 含有快速合成结构域, 将 MLV 的延伸速度提高了 3-4 倍, 因此适用于快速反转录反应; 优化的反转录 Buffer 系统, 可以获得更高产量的 cDNA, 从而提高后续检测的灵敏度。合成的第一链 cDNA 可广泛用于 2nd Strand 的合成、杂交、PCR 扩增、Real-Time PCR 反应等。

应用:

- (1) 该制品可有效反转录 mRNA、tRNA、LncRNA、ncRNA
- (2) 该制品不可反转录 microRNA

组分

名称	100T
5xFast RT MasterMix	0.4 ml
20xOligo dT(25)&Random Primer	0.1 ml
RNase Free H ₂ O	1 ml

储存: 请置于-20°C, 可保存 3 年; 避免反复冻融。

1. 按以下组分配制反转录反应液

Total RNA or Poly(A) RNA	0.1-2 µg
5xFast RT MasterMix	4 µl
*20xOligo dT(25)&Random Primer	1 µl
Rnase Free H ₂ O	Up to 20 µl

*注: 反转录引物可根据需要改用特异性引物。

2. 反应程序

50°C	5 min (cDNA 合成)
95°C	1 min (失活 MLV)

3. 采用 0.25-2µl 反转录产物, 作为后续定量 PCR 或 PCR 的扩增模板即可。