

4× EZscript Reverse Transcription Mix II

说明书

Cat. No.: EZB-RT2

一、产品简介

本试剂盒为新一代快速逆转录试剂盒，与上一代产品相比具有更高的逆转录效率。4× EZscript RT Mix II 这一管试剂中包含逆转录所需的所有成分（逆转录酶、buffer、RNase Inhibitor、dNTPs、Oligo dT18、Random Hexamer）。本试剂盒采用的新型 M-MLV 突变体逆转录酶具有很强的抗干扰能力及扩增能力，扩增效率尤佳；同时采用了最新优化的反应体系，进一步提高了逆转录效率。使用本试剂盒逆转录 15 min 得到的扩增产物量可以达到 AMV 逆转录酶大约 1 h 的产物量（Ct 值相同）。后续逆转录产物建议用于 PCR、qPCR，不建议用于基因克隆。

二、产品组分

组分	EZB-RT2 (100 Rxns, 20 µl/Rxn)	EZB-RT2-L (500 Rxns, 20 µl/Rxn)
4× EZscript RT Mix II	550 µl	550 µl × 5 tubes
Nuclease free ddH ₂ O	1 ml	1 ml × 5 tubes

三、保存条件

本产品所有组分置于-20°C 保存，可保存 24 个月。

四、操作步骤

使用前将 4× EZscript RT Mix II 从冰箱中取出，上下颠倒 5~10 次使之充分混匀（很重要），然后使用离心机短暂离心将管壁上附着的液体甩下来，置于冰上待用。

逆转录反应

1. 逆转录时，按照如下体系配制逆转录反应体系，即取 100 ng~2 µg 的总 RNA（一般建议使用 1 µg 的总 RNA），加入 5 µl 的 4× EZscript RT Mix II，然后加入 ddH₂O 补足至 20 µl:

成分	体积（20 µl 体系）
总 RNA	1 µg（100 ng ~ 2 µg）
4× EZscript RT Mix II	5 µl
Nuclease free ddH ₂ O	补足到 20 µl

2. 按照上表加好试剂后，必须用移液器轻柔吹打 10 次左右使之充分混匀（很重要，混匀时建议将移液器刻度调到 18 µl 左右），然后短暂离心至管底。
3. 逆转录反应条件：42°C 反应 15 min，95°C 反应 30 sec；逆转录反应结束后得到的产物即为 cDNA。
4. 逆转录反应得到的 cDNA 可直接作为模板进行 qPCR 反应，或者稀释 5~10 倍后再使用（具体的稀释倍数根据基因表达丰度来确定）。在 20 µl 的 qPCR 反应体系中：如果模板 cDNA 不稀释，建议使用 0.4 µl 的 cDNA（0.2~0.8 µl）；如果模板 cDNA 稀释 5 倍，建议使用 2 µl 的 cDNA（1~4 µl）；如果模板 cDNA 稀释 10 倍，建议使用 4 µl 的 cDNA（2~8 µl）。如不立即进行 qPCR 实验，建议将 cDNA 冻存于-80°C 冰箱中。