

5X RT MasMIX -30100Для исследовательских работ *in vitro***RTМастерМИКС для обратной транскрипции РНК**

Кат.№	Количество
MMRT-50	50 реакций
MMRT-100	100 реакций

RTМастерМИКС состоит из высококачественных реактивов для обратной транскрипции РНК, выделенной из различных источников.

Качество **МастерМикса** гарантируется на протяжении более 1 года, при -20°C.

Описание:

RTМастерМИКС рекомендуется для проведения обратной транскрипции РНК, выделенной из различных источников

RTМастерМИКС содержит **MMuLVH- обратную транскриптазу** выделенную из рекомбинантного штамма *E.coli*, несущего ген обратной транскриптазы **Moloney Murine Leukemia Virus (Фермент не содержит нативной РНК-азной активности)** и **RNAsine** нативный белок, обладающий высокой специфической активностью ингибирования различных типов рибонуклеаз (РНКазы А,В,С).

5X RTМастерМИКС:

MMuLVH- обратная транскриптаза
RNAsine ингибитор рибонуклеаз

dA,dT,dC,dG -500µM каждого

Реакционный буфер

MgCl₂ – 3.0mM

(1X конечная концентрация)

Стабилизатор/энхансер

RTМастерМИКС содержит оптимальные концентрации всех реагентов для эффективного проведения обратной транскрипции РНК, выделенной из различных источников.

RTМастерМИКС позволяет проводить обратную транскрипцию при повышенных температурах (вплоть до +65°C), что дает возможность использовать **RTМастерМИКС** сложных участков РНК.

Наличие в **RTМастерМИКСе** стабилизатора увеличивает стабильность продукта при транспортировке и использовании для проведения обратной транскрипции РНК.

Общий протокол Обратной Транскрипции

RTМастерМИКС применяется для обратной транскрипции РНК , выделенной из различных источников.

Чувствительность определения находится в пределах от 1пиког до 20нг для поли(А) РНК (мРНК) и /или 10пг до 1 мкг тотальной РНК.

Обратная транскрипция без денатурации образца РНК:

Добавьте следующие компоненты в чистую пробирку для амплификации. Все манипуляции необходимо проводить на льду, тщательно перемешивая добавляемые компоненты.

Реактив	Исходная концентрация	Конечная концентрация	Объем реакции, 25 мкл
5X RT MasMix-30100	5X	1X	5 мкл
Праймеры (oligo dT ₁₀₋₂₅ или "random" праймер)	50мкМ	0,4-1 мкМ	0,2-0,5мкл
Образец РНК	Опционно*	1пг-1мкг для тотальной РНК 10пг-500нг мРНК	-
Вода для ПЦР	-	-	До 25 мкл

*- Определяется пользователем

Поведите Обратную Транскрипцию как предложено ниже:

Поместите пробирку(ки) в амплификатор и проведите обратную Транскрипцию и амплификацию по следующей схеме:

Обратная транскрипция	25°C 42-50°C	10 мин 30 мин	1X цикл 1X цикл
Инактивирование ревертазы	85°C	5 мин	1X цикл
Хранение	4°C		

Для последующего анализа рекомендуется брать не более 2 мкл , полученного раствора кДНК на реакцию амплификации объемом 25 мкл.