



PPT
(precision pathology technique)

广州市粤斌医学研究有限公司

QPCR 实验报告

广州市粤斌医学研究有限公司

电话:020-8478 4010

地址:广州市番禺区南村镇兴业大道 28 号华鑫大厦 1 栋 5 楼空中花园 502 室



PPT

(precision pathology technique)

一、实验材料:

(一) 样品及编号:

大鼠脊髓组织样本

(二) 试剂与仪器:

Maxima™SYBRGreen/ROXqPCRMasterMix (2X) (K0221, Thermo) ; 总 RNA 提取试剂盒 (LS1040, 上海 Promega 公司) ; miRNA1st Strand cDNA Synthesis Kit (by stem-loop) (MR101-02, Vazyme) ; 通用反转录试剂盒 (K1622, Thermo 公司); Marker1 (M1081, 东盛生物公司); 无水乙醇 (广州化学试剂厂) FastPrep-24 匀浆机 (MP 公司) ; Ultra Pure UF 纯水系统 (上海和泰仪器有限公司) ; YXQ-LS-30S II 型立式压力蒸汽灭菌器 (上海博迅实业有限公司医疗设备厂) ; JS-680A 自动凝胶图像分析仪 (上海培清科技有限公司) 和 Step One QPCR 仪 (Applied Biosystems)

二、实验步骤:

1. 准备 1.5 mL 的 EP 管;
2. 冰上操作: 在 EP 管中加入相同量的约 0.5 μ g 模板 RNA, 1 μ L Oligo(dT)₁₈ 引物, DEPC 水定容至 12 μ L, 短暂离心;
3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟后, 冰上冷冻;
4. 短暂离心后, 冰上操作: 加入 4 μ L 5 \times reaction Buffer, 1 μ L Ribolock™ Ribonuclease Inhibitor, 2 μ L (10mmol) dNTP mix, 1 μ L (200U/ μ L) ReverAid M-MuLV 反转录酶 (总反应体积 20 μ L) ;
5. 短暂离心, 42 $^{\circ}$ C 水浴 60 分钟进行反转录;
6. 70 $^{\circ}$ C 水浴 5 分钟灭活逆转录酶, 终止反应, 再冰上冷冻;

-20 $^{\circ}$ C 保存, 或立即进行 PCR。

广州市粤斌医学研究有限公司

电话:020-8478 4010

地址:广州市番禺区南村镇兴业大道 28 号华鑫大厦 1 栋 5 楼空中花园 502 室



PPT
(precision pathology technique)

广州市粤斌医学研究有限公司

广州市粤斌医学研究有限公司

电话:020-8478 4010

地址:广州市番禺区南村镇兴业大道 28 号华鑫大厦 1 栋 5 楼空中花园 502 室