

Protocolo de transcrição reversa (LAB. PROTOZOOLOGIA – IMT – FMUSP)

Quantidades por tubo

dNTP's	2,5 μ L
RT-Buffer (5X)	5 μ L
0,1M DTT	2 μ L
Oligo DT Primer	2 μ L
RNA	10 μ L
TOTAL	22,5 μ L

1. Aquecer os tubos a 70° C por 5 minutos.
2. Resfriamento a 0° C por 5 minutos.
3. Acrescentar 1 μ L de transcriptase reversa (SuperScript II[®] Gibco).
4. Incubação à temperatura ambiente por 5 minutos.
5. Incubação a 37° C por 60 minutos, 90° C por 5 minutos e 0° C por 5 minutos.
6. Acrescentar 175 μ L de água Milli-Q[®] estéril.

ATENÇÃO: Durante todo o procedimento, os tubos de amostra e de reagentes são mantidos em gelo picado.