

## 分子酶产品

### DNA聚合酶及扩增

- Taq DNA Polymerase
- HS-Taq DNA Polymerase
- HiFi DNA Polymerase
- Pfu DNA Polymerase
- KOD DNA Polymerase
- Pfu II high fidelity DNA polymerase
- HemoTaq DNA Polymerase (Blood-resistant)
- KlenTaq DNA Polymerase
- ARMS Taq DNA Polymerase
- Bst DNA Polymerase

### 逆转录

- M-MLV Reverse Transcriptase
- RTX Reverse Transcriptase

### 克隆系列

- Seamless Cloning Kit
- T5 Exonuclease
- T4 DNA ligase
- Taq DNA ligase

## 武汉金开瑞生物工程有限公司

WUHAN GENECREATE BIOLOGICAL ENGINEERING CO., LTD.

电话: 027-87960366

邮箱: marketing@genecreate.com

网址: www.genecreate.cn



扫码咨询客服



微信公众号

## 分子系列产品



# M-MLV Reverse Transcriptase

## 产品说明书

产品名称	M-MLV Reverse Transcriptase
来源	大肠杆菌重组表达
货号	JKR-DEM025
产品形态	液体
酶活	200 U/μL
储存条件	-20 ± 5 °C
分子量	74 kDa
保存缓冲	20 mM Tris-HCl (pH 7.5)、100 mM NaCl、0.1 mM EDTA、1 mM DTT、0.01% NP-40、50% glycerol
活性定义	以Poly(rA)•Oligo d(T) <sub>15</sub> 为模板的50 μL反应体系中, 37°C 10 min内将1 nmol dTTP掺入到酸不溶性物质所需的酶量是1活性单位 (U)
质量控制	无核酸外切酶、DNase和RNase活性, PCR检测无宿主基因组残留
有效期	24个月

## 产品说明

M-MLV Reverse Transcriptase是经基因工程改造的反转录酶,降低了RNase H活性,提高了热稳定性,可以比野生型的M-MLV在更高的温度下合成第一链cDNA。本产品可在50-60°C均有正常活性,具有更高的特异性、更高的产量且可以合成长达12 kb的cDNA。

## 产品组分

组分编号	组分名称	规格		
1	5× First-Strand Buffer	0.4mL	2mL	4mL
2	M-MLV Reverse Transcriptase	20000U	100000U	200000U

## 操作说明

### 第一链cDNA合成 (简易流程)

按下表添加并混合各组分,55°C孵育0.5H。如果使用随机引物,建议在55°C反应前先将反应体系置于25°C反应5 min。

组分	加入量	注:1 ng-1 µg 总RNA模板或50 pg - 100 ng Poly(A)-RNA。在95°C 3min使酶失活。对于下游PCR应用,逆转录产物的加入体积不应超过PCR反应总体积的1/10。
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 µL	
5× First-Strand Buffer	4 µL	
RNA模板	50 pg - 1 µg*	
50 µM d(T)23VN或60 µM随机引物	2 µL	
10 mM dNTPs	1 µL	
RNase Inhibitor (40 U/µL)	0.2 µL	
M-MLV Reverse Transcriptase (200 U/µL)	1 µL	

### 第一链cDNA合成 (标准流程)

如果需要变性模板RNA,请使用以下方案。

在无RNase的PCR管中加入RNA模板和d(T)23VN引物。

组分	加入量	*注:1 ng-1 µg 总RNA模板或50 pg - 100 ng Poly(A)-RNA。
RNA模板	50 pg - 1 µg*	
50 µM d(T)23VN或60 µM随机引物	2 µL	
10 mM dNTPs	1 µL	
ddH <sub>2</sub> O	Up to 10 µL	

将以上体系置于65°C下反应5min,使RNA模板/引物变性后短暂离心并迅速置于冰上2min。然后向上述PCR管中加入以下组分:

组分	加入量
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20 µL
上一步变性的RNA模板/引物	10 µL
5× First-Strand Buffer	4 µL
100 mM DTT	2 µL
RNase Inhibitor (40 U/µL)	0.2 µL
M-MLV Reverse Transcriptase(200 U/µL)	1 µL

混匀后,55°C孵育0.5H。如果使用随机引物,建议在55°C反应前先将反应体系置于25°C反应5 min。95°C加热3 min使酶失活,逆转录产物储存在-20°C。对于下游PCR应用,逆转录产物的加入体积不应超过PCR反应总体积的1/10。

### 一步法RT-qPCR反应

推荐使用本公司优化的One Step RT-qPCR KIT进行测试。一般情况下一个反应推荐M-MLV Reverse Transcriptase浓度为0.5-2U/µL,扩增条件如下:

推荐的PCR反应程序		
温度	时间	循环数
55-60°C	5-10 min	1
95°C	3 min	1
95°C	15-30 s	40-45
45-68°C	15-60 s	
68°C	1 kb/min	