

MMLV反转录酶

KM409 10000U

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KM409
script H ⁻ RTase (200U/ μl)	-20°C	10000U
5×RT Buffer	-20°C	500μl

本试剂盒在-20°C储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

本制品使用通过基因重组技术克隆表达的点突变型 RNase H 活性缺失的 M-MuLV 反转录酶 Script H⁻ RTase。野生型的 M-MuLV 包含的 RNase H 活性能够催化降解 DNA/RNA 杂合体中的 RNA，因此在 cDNA 第一条链的合成反应中可能会降解 RNA/DNA 杂合体中的模板 RNA。本酶 M-MuLV(RNase H⁻)的 RNase H 活性缺失，与 M-MuLV 相比，具有更强的延伸能力和稳定性，可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。

产品特点: 第一链 cDNA 合成。可用于低拷贝基因的检测，合成 cDNA 片段长度最高可达 12 kb。

注意事项:

1. 避免 RNase 污染。
2. 使用高质量的 RNA 模板。
3. 如果 RAN 模板 GC 含量丰富或者有复杂的二级结构，可以先加 RNA 模板，引物和 RNase free H₂O 混匀，65°C 变性 5 分钟，冰上冷却，短暂离心后加入其他成分继续下面反转录步骤。

操作步骤: 第一链cDNA合成(以20μl反应体系为例)

1. 按照下图加入组分

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 μ g/5-500 ng
Oligo(dT)18(0.5 μ g / μ l)or Random Primer(0.1 μ g/ μ l) or GSP(Gene Specific Primer)	1 μ l
	1 μ l
	2 pmol
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μ l
5 \times RT Buffer	4 μ l
RNase Inhibitor(40 units/ μ l)	0.5 μ l
Script H ⁻ RTase	0.8-1 μ l
RNase free H ₂ O to final volume	20 μ l

2. 轻轻混匀

如用Oligo(dT)18或基因特异引物(GSP), 42°C孵育30-50min。

如用Random Primer, 25°C孵育10 min, 42°C孵育30-50 min。

3. 65°C加热15 min(或者85°C加热5 min)失活script H⁻ RTase。

RT-PCR

建议取1/10-1/5 体积(2-4 μ l)的反转录产物作为PCR模板。