

MMLV Reverse Transcriptase 产品说明书

| 产品名称 | Cat# | 规格 |
|-----------------------------------------------|---------|-------------|
| MMLV Reverse Transcriptase (200U/ μ L) | F103A00 | 50 μ L |
| | F103A01 | 100 μ L |
| | F103A02 | 200 μ L |
| | F103A03 | 500 μ L |

产品描述

野生型 M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus) 具有 RNase H 活性能够催化降解 RNA/DNA 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模板 RNA。本产品是通过定点突变得到的 RNase H 活性减少的 M-MLV 突变体, 相较于野生型 MMLV 和 MMLV RNase H- 酶, 具有更高的 cDNA 产量, 改进的 cDNA 长度, 更高的高 GC 含量, 同时具有末端转移酶活性, 可用于 5' RACE 等实验。

产品组分

| 组分 | 产品规格/编号 | | | |
|----------------------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
| | F103A01 | F103A02 | F103A03 | F103A04 |
| MMLV Reverse Transcriptase | 50 μ L | 100 μ L | 200 μ L | 500 μ L |
| 10 \times MMLV Buffer | 500 μ L | 1 mL | 1 mL \times 2 | 1 mL \times 5 |
| 0.1M DTT | 500 μ L | 1 mL | 1 mL \times 2 | 1 mL \times 5 |

产品信息

| | |
|------|----------------------------|
| 产品名称 | MMLV Reverse Transcriptase |
| 来源 | 大肠杆菌 |

| | |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 活性单位定义 | 37°C条件下,以 Poly(A)-Oligo(dT) 为模板/引物,在 10 min 内,掺入 1 nmol 的 ^[3H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。 |
| 储存缓冲液 | 20mM Tris,100mM NaCl,0.1mM EDTA,1mM DTT,0.01% NP-40,50%甘油,pH7.5 |
| 储存条件 | -20°C |

运输和储存

本产品随干冰运输,可在-20°C保存两年。

实验流程

反应体系:

1.于冰上配置如下体系

| 组分 | 体系 |
|-----------------------|----------------------------|
| 引物 | X μ L |
| Oligo(dT)20 | 终浓度 2.5 μ M |
| 或随机引物 | 终浓度 2.5 ng/ μ L |
| 或基因特异性引物 | 终浓度 0.25 μ M |
| 模板 RNA | 50 ng~1 μ g/20 μ L |
| dNTP Mix (10 mM Each) | 1 μ L |
| ddH ₂ O | Up to 13 μ L |

2. 将以上混合液在 65°C温育 5 min, 迅速取出置于冰上冷却 1 min;

3. 向反应混合液中继续加入:

| 组分 | 体系 |
|--------------------------------------------|-----------|
| 10×MMLV Buffer | 2 μ L |
| 0.1M DTT | 1 μ L |
| MMLV Reverse Transcriptase (200U/ μ L) | 1 μ L |

| | |
|---------------------------------|-----------|
| RNase Inhibitor (40 U/ μ L) | 1 μ L |
|---------------------------------|-----------|

4. 轻柔吸打混匀后，瞬离；
5. 若使用 Oligo(dT)20 或基因特异性引物，42°C温育 30 min；若使用随机引物，先 25°C温育 5 min，之后 42°C温育 30 min；
6. 反应结束后，85°C温育 5 min 以终止反应；
7. 将获得的 cDNA*溶液置于冰上，用于后续实验。

*cDNA 溶液置于-20°C可保存半年；置于-80°C可长期储存。

注意事项

1. 防止 RNase 污染
2. 实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase-free。
3. 操作时需穿戴干净的手套、口罩
4. 请保持实验区域洁净
5. 本产品仅做科研用途