



M-MLV III Reverse Transcriptase (High Temperature RT)

产品信息:

组成	AT302-01	AT302-02
M-MLV III(200U/μl)	10000U	10000U×5
5×RT Buffer	500ul	500ul×5

储存条件: -20℃ 保存

制品说明:

本制品是通过基因重组技术改造, 在大肠杆菌中表达纯化得到的高温反转录酶, 去除 RNaseH 活性。该酶可在 37℃-55℃ 条件下合成第一链 cDNA, 具有灵敏度高, 特异性高, 热稳定性高和半衰期长的特点。聚合能力强, 具有更强的延伸能力, 可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。

适用范围: 第一链cDNA 合成。可用低拷贝基因的检测。

第一链cDNA合成(以20μl反应体系为例)

1. 加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5μg/5-500ng
Anchored Oligo(dT)20(0.5 μg /μl)	1μl
or Random Primer(N9)(0.1 μg/μl)	1μl
or GSP	2pmol
10mM dNTPs	1μl
5× RT Buffer	4μl
Ribonuclease Inhibitor (50 units/μl)	0.5μl
M-MLV III	1μl
H ₂ O(RNase free) to final volume	20μl

2. 轻轻混匀

如用Anchored Oligo(dT)20或基因特异引物(GSP), 42℃孵育50min。

如用Random Primer(N9), 25℃孵育10 min, 42℃孵育50 min。

如果扩不出, 可能存在RNA二级结构, 建议提高温度重新扩增。

3.85℃加热15 min失活M-MLV III。

RT-PCR

建议取1/10-1/5 体积(2-4 μl)的反转录产物作为PCR模板。

Components	Volume	Final Concentration
Template	2μl	as required
Forward Primer (10 μM)	1μl	0.2μM each
Reverse Primer (10 μM)	1μl	0.2μM each
10×Taq Buffer (含Mg ²⁺)	5μl	1×
2.5 mM dNTPs	4μl	0.2mM
Taq DNA Polymerase	0.5μl	2.5 units
ddH ₂ O to final volume	50μl	Not applicable

建议PCR条件(以50 μl反应体系为例)

PCR 循环

94℃ 2-5min

94℃ 30sec

50-60℃ 30sec

72℃ 1-2kb/min

72℃ 5-10min

30-40 cycles

注意事项:

1. 避免RNase污染。
2. 为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。

BM20210602