

Version 1

Evo M-MLV 反转录聚合酶

Evo M-MLV Reverse Transcriptase

Code No. AG11605

包装量:

10000 U (200 U/ µ I)

保存温度: -20 ℃

▶ 产品概述

Evo M-MLV RTase是本公司特别研发的一种M-MLV由来的新型反转录酶,具有较强的cDNA延伸能力,即使对有复杂二级结构的RNA,也能得到良好的反应效果,可以有效的合成1st Strand cDNA。适合于长链cDNA的合成及全长cDNA文库的构建等。

▶ 保存

保存温度: -20℃

运输温度:干冰或者 -20℃ 冰袋

▶ 活性定义

以Poly(A)为模板, Oligo (dT)为引物, 在37℃条件下, 10分钟内催化掺入1nmol的dTTP所需酶量定义为1个活性单位(U)。

▶ 产品组成

Evo M-MLV RTase (200 U/ µ I)	50 μI
5X RTase Reaction Buffer	400 µl

> 实验操作

1) 首先配制RNA模板溶液,混合液配制好后置于PCR仪中进行变性、 退火反应。(此过程有利于模板RNA的变性以及反转录引物和模板的 特异性退火,可以提高反转录效率)

组分名称	用量
dNTP Mix (10mM each)	1 μΙ
Oligo dT Primer (or Random 6 mers Primer) (or Specific Primer)	50 pmol (or 50 pmol) (or 2 pmol)
Template RNA*	-
RNase free water	Up to 10 μl

^{*:} Total RNA推荐用量: ≤ 5 μg; mRNA推荐用量: ≤ 1 μg。

变性、退火反应条件:

65°C	5 min
4°C	-



2) 配制反转录反应体系,合成cDNA:

组分名称	用量
上述变性、退火后反应液	10 μΙ
5X RTase Reaction Buffer	4 μΙ
RNase Inhibitor	20 U
Evo M-MLV RTase (200 U/ μ1)	0.5 μΙ
RNase free water	Up to 20 μI
合成cDNA反应条件*1:	
42(or 50°C)*2	30 - 60 min*3
70 °C	15 min
4℃	-

^{*1:} 如果使用Random引物进行反转录,需要在反应开始前进行30 ℃反应10min处理,可使Random引物与模板充分退火、延伸,增加反转录效率。

3) 上述得到的cDNA 溶液可以直接用于后续2nd Strand cDNA合成及PCR扩增等。

详细信息请查阅 https://www.agbio.com.cn

本产品仅供科学研究使用,不能用于人、动物的医疗或诊断程序,不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

^{*2:}使用特异性下游引物进行反转录时,有时会因为错配而产生非特异性扩增,此时可将反应温度升高到50°C,以提高反应特异性。 *3:一般情况下反应延伸30 min即可,如果目的片段过长,可延长时间至60 min。