

Evo M-MLV Plus 反转录聚合酶

Evo M-MLV Plus Reverse Transcriptase

Code No. AG11614

包装量:	10000 U (200 U/ μ l)
保存温度:	-20 °C

产品概述

反转录酶 *Evo M-MLV Plus Reverse Transcriptase*，具有很强的cDNA延伸能力。该制品在 *Evo M-MLV Reverse Transcriptase* 的基础上进行了改造，使其非常适合于含有复杂二级结构的RNA或者长链RNA的反转录。本制品可抑制反转录酶与具有复杂结构RNA的非特异结合及延伸，进而获得特异性好、完整性好的全长cDNA。该制品适合于cDNA文库构建及全长cDNA合成等。

保存

保存温度: -20°C
运输温度: 干冰或者 -20°C 冰袋

活性定义

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

产品组成

<i>Evo M-MLV Plus RTase</i> (200 U/ μ l)	50 μ l
5X RTase Plus Reaction Buffer	500 μ l

注意事项

- Evo M-MLV Plus RTase*甘油浓度较高，使用前短暂离心将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液枪轻轻吸打混匀，过程中尽量避免起泡，然后再进行使用。
- 5X RTase Plus Reaction Buffer 溶解后如有不溶物请充分混匀至沉淀全部消失。
- 所有反应混合液需要在冰上配制。

实验操作

- 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 μ l
Oligo dT Primer (or Random 6 mers Primer) (or Specific Primer)	50 pmol (or 20~100 pmol) ^{*1} (or 2 pmol)
Template RNA ^{*2}	-
RNase free water	Up to 10 μ l

*1: Random 6 mers Primer建议使用量为50 pmol，可根据实验要求进行调整。

*2: Total RNA推荐用量: $\leq 5 \mu$ g; mRNA推荐用量: $\leq 1 \mu$ g。

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 μ l
5X RTase Plus Reaction Buffer	4 μ l
RNase Inhibitor	20 U
<i>Evo M-MLV</i> Plus RTase (200 U/ μ l)	1 μ l (200U)
RNase free water	Up to 20 μ l

合成cDNA反应条件:

30°C ^{*1}	10 min
42°C ^{*2}	30-60 min ^{*3}
95°C	5 min ^{*4}
4°C	-

*1: 如果使用Random引物进行反转录, 此步骤为必需步骤, 可使Random引物与模板充分退火、延伸, 增加反转录效率; 如使用其他引物, 则可省略此步骤。

*2: *Evo M-MLV* Plus RTase对具有复杂二级结构的模板同样具有良好的延伸性能, 通常可在42°C下进行反应。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。

*4: 如果进行长片段DNA扩增时, 为保证1st cDNA链完整, 可进行70°C, 15min失活反应。

3) PCR扩增

上述得到的cDNA溶液可以直接用于后续PCR扩增, 反应液用量不要超过PCR反应体系的1/10。

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.