



M-MLV Reverse Transcriptase

订购信息

目录号	规格
T11411	10,000U
T11412	50,000U

产品简介

M-MLV Reverse Transcriptase (M-MLV RT) 是一种依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶, 以 RNA 为模板在引物存在的情况下可合成 cDNA 第一条链。M-MLV Reverse Transcriptase 是来源于大肠杆菌的重组表达蛋白, 在野生型 M-MLV 的氨基酸框架的基础上, 进行了基因优化, 去除了核糖核酸酶 H(RNase H) 的活性, 提高了酶与模板-引物结合力, 具有良好持续合成能力并获得高产量的 cDNA。

产品特点

持续合成能力强, 可获得 8kb 的 cDNA

灵敏度高, 模板浓度范围 1ng-5μg

产品组成

M-MLV Reverse Transcriptase (200U/μl)

5×M-MLV Buffer

活性单位定义

1 个活性单位 (U) M-MLV Reverse Transcriptase 定义为在 37°C 条件下, 10 分钟内将 1nmol dTTP 合成核酸的酶量。

酶储存液

20mM Tris-HCl (pH7.5), 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.01% NP40 (v/v), 50% glycerol (v/v)

5×反应缓冲液:

250mM Tris-HCl (pH8.3), 375mM KCl, 15mM MgCl₂, 100mM DTT

质量控制

1. 每批 M-MLV Reverse Transcriptase 活性均 ≥ 200U/μl, 批间差 ≤ 5%;
2. PCR 方法检测无宿主残余 DNA;
3. 无外源 DNase、RNase 污染。

使用实例

cDNA 第一条链的合成:

1. 向无 RNA 酶的离心管中加入以下组分:

引物	Oligo(dT) ₁₂₋₁₈	0.5-1μg
	random primers	50-250ng
	gene-specific primer	2pmol
模板	total RNA	1ng-5μg
	mRNA	1ng-500ng
dNTP Mix	—	0.2μM
Add to	—	12μl

2. 65°C 加热 5min 后, 立即冰浴 5min, 短暂离心后依次加入以下组分:

5×反应缓冲液	4μl
DTT (0.1M)	2μl
Rnase 抑制剂 (40U/μl)	1μl
M-MLV RT	1μl

3. 用移液器轻轻混匀后于 37°C 保温 30min;
4. 70°C 加热 15min 以终止反应;
5. 上述产物可立即进行后续的 PCR 反应或者于 -20°C 保存。

保存条件

-20°C 保存一年。

注意事项

1. 亚精胺会抑制该酶的活性;
2. 操作过程中需避免 RNase 污染;
3. 为减少对产品稳定性的影响, 建议分装使用。