

Foreasy Reverse Transcriptase

M-MLV for reverse transcription

产品介绍

Foreasy Reverse Transcriptase 是利用基因重组技术在大肠杆菌工程菌中表达的一种全新逆转录酶, 无 RNase H 活性, 稳定性强, RNA 亲和能力强, 检测灵敏度高等优点。

产品组成

组分	IM-02011	IM-02012	IM-02013
Foreasy Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)	200 KU (1 mL)	2000 KU (10 mL)	5000 KU (25 mL)
5x Foreasy RT Buffer	1 mL x5	10 mL x5	10 mL x12

保存

-20 \pm 5 $^{\circ}$ C保存 2 年或-80 $^{\circ}$ C 长期保存。

产品用途

- ◆ cDNA 第一链的合成, 用于 RT-PCR 和实时 RT-PCR
- ◆ cDNA 的合成, 用于克隆和表达。
- ◆ 用于微阵列的标记 cDNA 探针的生成。
- ◆ 引物延伸 RNA 分析

活性定义

1U: 以 Poly(rA)Oligo(dT)为模板/引物, 在 37 $^{\circ}$ C、10 分钟条件下, 掺入 1 nmol 的 [3 H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

操作方法：合成第一链 cDNA (20 μ L reaction system)

RT 体系配制(以下操作步骤请在冰上进行)。

1. 各试剂组分解冻后, 按照下表 1 顺序添加至反应管中。

表 1:

RT 体系添加内容	添加量	终浓度
Template RNA	X μ L	Total RNA:<5 μ g / mRNA:<0.5 μ g
Random Primer	0.2 μ g	100 pmol
Or Oligo(dT) ₁₈ Primer	0.5 μ g	100 pmol
Or Specific Primer	15-20 pmol	15-20 pmol
RNase-Free ddH ₂ O	to 12.5 μ L	

2. 体系配制完成后, 轻柔混匀并简短离心后按照下表 2 反应条件进行 RT 反应。

表 2:

步骤	温度	时间	内容
1	65°C	5 min	变性
反应结束后置于冰上快速冷却			

3. 冰上冷却后按照表 3 顺序加入以下反应物。

表:3:

RT 体系添加内容	添加量	终浓度
5 \times Foreasy RT Buffer	4 μ L	1 \times
Foreasy RNase Inhibitor (40 U/ μ L)	0.5 μ L	1 U/ μ L
dNTP Mix (10 mM each)	2 μ L	1 mM
Foreasy Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)	1 μ L	10 U/ μ L

4. 体系配制完成后, 轻柔混匀并简短离心后按照下表 4 的反应条件进行 RT 反应。

表 4:

步骤	温度	时间	内容
1	42°C	50 min	cDNA合成
2	70°C	10min	失活逆转录酶
3	4°C	N/A	反应完成后置于4°C待用或-20°C保存

注意: 使用 Random Primer 时, 在第一步反应前, 应先进行 25°C, 10min 预热反应。以上程序仅作参考, 实际反应条件视模板、引物等的结构不同而各异。

反应完成之后, 反应产物置于冰上直接用于后续实验; 长期保存请置于-20°C或-80°C。