

Power 逆转录酶

货号/规格: R3011/2,000U, R3012/10,000U

产品简介

Power 逆转录酶是通过对 Moloney 鼠白血病病毒来源的 M-MLV 进行基因突变筛选得到的超耐热逆转录酶, 该酶可在 42°C-55°C 条件下合成第一链 cDNA, 同时耐受 65°C 高温, 更适合进行高温逆转录反应。该酶去除了 RNaseH 活性, 对于常见的逆转录反应抑制剂具有较高的耐受度, cDNA 合成能力更强, 可用于复杂二级结构的 RNA 逆转录, 能够合成较长的 cDNA 以及构建高比例的全长 cDNA 文库等。

产品组成

Component	R3011 (2,000U)	R3012 (10,000U)
Power 逆转录酶 (200U/μl)	10 μl	50 μl
5X Power Buffer	100 μl	250 μl

活性定义

以 Poly (rA)·Oligo (dT) 为模板/引物, 在 37°C, 10 min 条件下, 使 1 nmol 的 dTTP 掺入酸性沉淀物质所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

保存条件

-30~-15°C 保存。

应用举例

1. RNA 模板变性

按以下体系于 RNase-free 的离心管中配制反应液:

Component	Amount
Oligo (dT) ₁₅ Primer (50 μM) [1]	
/ Random Primer (20-100 μM) [1]	1 μl
/ 特异性引物 (2 μM) [1]	
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
Total RNA	10 pg ~ 5 μg
/ mRNA	10 pg ~ 1 μg
RNase-free ddH ₂ O	to 10 μl

[1] 请根据实验需要选择合适的引物: Oligo dT 引物仅转录 mRNA, Random Primer 可转录所有类型的 RNA, 特异性引物仅转录特异的 RNA 片段。

于 65°C 加热 5 min, 再置于冰上迅速冷却 2 min。

2. 配制第一链 cDNA 合成反应液

按以下体系于 RNase-free 的离心管中配制逆转录反应液:

Component	Amount
上一步的反应液	10 μl
5X Power Buffer	4 μl
Power 逆转录酶 (200 U/μl)	1 μl
RNase inhibitor (40 U/μl)	1 μl
RNase-free ddH ₂ O	to 20 μl

用移液器轻轻吹打混匀。

3. 设定程序进行逆转录反应

将上述混合物充分混匀后按以下条件进行逆转录反应:

Temperature	Time
25°C [1]	10 min
50°C	30-60 min
95°C	5 min

[1] 仅当使用 Random Primer 时需要此步, 当使用 Oligo (dT)₁₅ Primer 或特异性引物时无需进行此步。

产物可立即进行 PCR 或 qPCR 反应, 或保存于 -20°C 及以下环境中, 并避免反复冻融。

注意事项

1. 请使用高质量的 RNA, 保证逆转录反应的效率

2. 在逆转录反应中注意防止 *RNase* 污染

本品仅供科学研究使用。