EZassay

M-MLV (H-)逆转录酶说明书

Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase
Instructions

info@ezassay.com
www.ezassay.com
深圳易致生物科技有限公司

目录编码: MV-RT-5000
MV-RT-10000

目录 CONTENTS

内容	页码

产品信息 1

产品简介 1

储存 1

试剂盒组成 1

模板类型 2

单位定义 2

应用范围 2

使用说明 2

产品信息	
产品名称	M-MLV (H-)逆转录酶
表达系统	E.coli大肠杆菌
性 质	重组蛋白
形 式	液体
分 子 量	74kDa

产品简介
Product Introduction

M-MLV逆转录酶是一种将单链RNA、DNA或RNA-DNA杂合体（利用引物）合成互补DNA链的DNA聚合酶。M-MLV(H-)逆转录酶是缺少RNase H活性的M-MLV突变体。与常见的通过删除RNase H结构域方法得到的突变体相比，本产品保留了完整的蛋白结构，保留了依赖于RNA的DNA聚合酶活性；依赖于DNA的DNA聚合酶活性。可用于较长的cDNA合成。

储存
Storage

本产品于-20°C保存，有效期1年。

试剂盒组成
Materials supplied

货号	MV-RT-5000	MV-RT-10000
M-MLV(H-)逆转录酶*	5000U	10000U
5×反应缓冲液**	300μL	600μL

* 建议收到货或者第一次使用时分装各组分保存。避免反复冻融。
**5×反应缓冲液：250mM Tris-HCl，375mM KCl，15mM MgCl2，0.2% Tween 20，pH8.3

模板类型
Template type

ssDNA, ssRNA, RNA-DNA hybrid

单位定义
Unit definition

以Poly (rA)・Oligo (dT)为模板/引物，在37℃， 10 min条件下，掺入1 nmol的dTTP为酸不溶性物质所需要的酶量定义为1个活性单位 (U)

应用范围
Scope of application

- 合成cDNA
- 逆转录
- 2步法RT-PCR检测
- 实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)
- 制备cDNA文库或合成第一条cDNA链
- 合成克隆用cDNA

使用说明
Instructions for use

cDNA第一条链的合成(First-stand cDNA Synthesis)：

a. 参考如下表格中设置的20 µL反转录体系。推荐搭配易致生物RNase Inhibitor（货号: MRI-10000）和dNTP mix（货号: dNTP-2000）：

模板（右侧 3 种任选其中一种）	Total RNA	0.1 ng-5 µg
	或 poly(A) RNA/mRNA	10 pg-0.5 µg
	或 specific RNA	0.01 pg-0.5 µg
引物（右侧 3 种任选其中一种）	Oligo(dT)18 primer	0.5 µg(或 100 pmol)
	或 Random Hexamer primer	0.2 µg(或 100 pmol)
	或 gene-specific primer	15-25 pmol
DEPC-treated Water	-	To 13.5 µl
选择性步骤：如果模板 RNA 的 GC 含量较高(例如大于 55%)或者有比较严重的二级结构，混匀后微离心以把液体沉降至管底，65℃ 孵育 5min，随后立即置于冰上冷却，以打开 RNA 中一些比较稳定的二级结构。		
5×Reaction Buffer	-	4 µl
RNase Inhibitor (40U/µl)	-	0.5 µl
dNTP Mix (10mM each)	-	1 µl
M-MLV(H-) (200 U/µl)	-	1 µl*
总体		20 µl

*如果用基因特异性引物或Oligo(dT)18反转录制备大于5kb的cDNA，则M-MLV反转录酶(RNase H-)用量宜增加至2 μl，以增加产量。

b. 轻轻混匀(用移液器轻轻吹打混匀或用涡旋混合器在最低速度轻轻混匀)，随后离心沉淀液体。

c. 如果使用Oligo(dT)18或基因特异性引物，42°C孵育60 min。如果使用random hexamer(随机六聚体)作为引物，先在25°C孵育10 min，随后在42°C孵育60 min。注意：对于GC含量较高或二级结构比较严重的模板RNA，可以50°C孵育60 min，以充分利用本产品在50°C时仍有良好的反转录酶活性这一特点，在较高温度进行反转录可以有效减少二级结构的干扰。

d. 80°C孵育10 min以失活M-MLV(H-)反转录酶并终止反转录反应。说明：对于5kb以上的长片断cDNA不推荐采用加热的方法失活反转录酶，该方法易导致部分长片断DNA被剪切，此时可考虑酚氯仿抽提或柱纯化方法。

e. 反转录产物可以直接用于后续的PCR反应等，也可以-20°C冻存以备以后使用。用于后续PCR反应时，如果PCR的反应体系为20和50微升，则推荐相应地使用0.8和2微升反转录产物。引物延伸、探针标记等其它用途请自行参考M-MLV反转录酶(RNase H-)的相关文献资料进行

核酸与蛋白产品专业提供商
Professional supplier of point-of-care test products
EZ assay 深圳易致生物科技有限公司
www.ezassay.com
info@ezassay.com