天净沙系列

CAT#:250301

低温运输，-20℃保存

天净沙

# 200 U/μL MMLV 反转录酶

## 200 U/μL MMLV Reverse Transcriptase

## 使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

本产品为浓度 200 U/μL 的 MMLV 反转录酶。MMLV 反转录酶可以用于 1st-Strand cDNA 的合成以及 RT-PCR 等。他具有以下特点:

1. 本酶具有很强的延伸能力，能够有效地合成 1st-strand cDNA，对有复杂二级结构的 RNA，在 42℃条件下也能得到良好的反应效果。
2. 无需进行高温反转录反应，高温的反转录反应会导致 RNA 的降解。
3. 本酶适合长链 cDNA 的合成及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。
4. 本产品活性单位定义：以 poly(rA)·oligo(dT)$_{12\text{-}18}$ 为模板/引物，在 37℃的条件下，10 分钟内掺入 1 nmol [$^3$H]dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位。
5. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用塑料袋包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 200 U/μL MMLV 反转录酶 | 250301 | 10,000 U | 0.5 mL 红盖管 |
| 5×反转录酶 MMLV 缓冲液 | 250301a | 500 μL | 0.5 mL 本色管 |
| 使用手册 | 250301sc | 1 份 | 无 |

- 酶贮存溶液：50%甘油、20 mM Tris-HCl（pH 7.8，25℃）、100 mM 氯化钠、1 mM 二硫苏糖醇（Dithiothreitol）、1 mM 乙二胺四乙酸（EDTA）
- 5×反转录酶 MMLV 缓冲液：250 mM Tris-HCl（pH 8.3）、375 mM 氯化钾，15 mM 氯化镁。

## 运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

## 自备物品

无核糖核酸酶水，微量离心管，引物，模板 RNA，RNase 抑制剂，dNTP 混合物。

## 使用流程

以 1st-Strand cDNA 为例，其使用方法如下:

1. 在微量离心管中按下表进行配制总体积为 10 μL 的混合液:

| 成分 | 用量 |
|---|---|
| 模板 RNA | 1 ng-5 μg |
| 注:Total RNA 使用量≤5 μg；mRNA 使用量≤1 μg | |
| Oligo (dT)引物（50 pmol）<br>或 6 mers 随机引物（50 pmol）<br>或特异性引物（2 pmol） | |
| dNTP 混合物（各 10 mM） | 1 μL |
| 无核糖核酸酶水 | 至 10 μL |

2. 65℃加热 5 分钟，然后迅速在冰上冷却。在上述微量离心管中继续配制如下体

系并轻轻混匀：

| 成分 | 用量 |
| --- | --- |
| 上述模板 RNA/引物变性溶液 | 10 μL |
| 5×反转录酶 MMLV 缓冲液 | 4 μL |
| RNase 抑制剂（40 U/μL） | 0.5 μL |
| 200 U/μL MMLV 反转录酶 | 0.5 μL-1 μL |
| 无核糖核酸酶水 | 至 20 μL |

3. 按以下条件设定程序进行逆转录：30℃ 10 分钟（随机引物需要此步骤）、42-50℃ 30-60 分钟（MMLV 反转录酶延伸能力强，通常情况下，即使模板 RNA 有复杂的二级结构，也可以在 42℃下进行反转录反应。但当反转录引物使用 PCR 的下游引物时，由于引物错配的原因等易发生非特异性反应这时可以将反转录反应温度设为 50℃，大多数情况下 30 分钟即可，但如果目的片段过长，需延长至 60 分钟）。
4. 70℃加热 15 分钟后冰上冷却。得到的 cDNA 溶液可直接用于 2nd-Strand cDNA 的合成或者 PCR 扩增等。

| | |
| --- | --- |
| **关联产品** | 200 U/μL 无 RNase H 活性的 MMLV 逆转录酶 |