

耐热逆转录酶使用说明书

(产品货号: EM117)

描述: 该酶是在鼠源病毒反转录酶基础上进行定点突变改良而得。该酶去除了 RNase H 活性中, 从而避免反转录过程中 降解 RNA。同时经过突变文库筛选, 使得其热稳定性更强, 可耐受 65° C 高温反应。相比于低温条件下反转录反应, 采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构, 从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度和产量, 从而提高后续检测的灵敏度。

产品组分与规格

货号	组 分	浓度	10,000 U	50,000 U
EM117	逆转录酶	200U/μl	1 管×50μl	1 管×250μl
	10×RT Buffer	--	1 管×500μl	5 管×1ml

酶活定义

以 poly(rA)为模板、oligo(dT)为引物, 在 37°C 条件下, 10 分钟内催化 1 nmol 的 dTTP 掺入形成酸不溶性沉淀物所需要的酶量, 定义为一个活性单位。

储存

-20°C, 可保存 3 年。

使用方法

1. 按以下组分配制反应体系:

ThermoStable V RTase	0.25-1 ul
10×RT Buffer	2 ul
dNTP Mixture (10 mM each)	1 ul
Total RNA or Poly(A) RNA	0.1-2 ug
20×Oligo dT(25)&Random Primer *	1 ul
RNase Inhibitor (40 U/ul)	0.5 ul
RNase Free H ₂ O	UD to 20 ul

*注: Oligo dT(25)使用浓度为 20~50 pM,如使用 Random9 随机引物可使用 125μM, 基因特异性引物可使用 5μM。

2. 在 PCR 仪上按下列条件进行逆转录反应

温度	时间
30°C	5min
*37-65°C	15-60min
85°C	10min
4°C	

3. 使用注意事项:

- 1.通常反转录温度设置为 50°C，无论是高 GC 或长片段模板，均可获得综合性的 cDNA 产量。在采用 65°C 反应条件时可显著提高 >75%GC 含量的 cDNA 产物。
- 2.反转录所得的 cDNA 可直接用于 PCR 反应或储存于 -20°C。



欢迎扫码关注