



TUREscript M-MLV(RNase H⁻)

Catalog# ZR101

	M-MLV(RNase H ⁻) (200U/μl)	5xMMLV 反应缓冲液	产品使用说明书
<input type="checkbox"/> ZR101-1	5000 U	0.15ml	一份
<input type="checkbox"/> ZR101-2	10000 U	0.25ml	一份
<input checked="" type="checkbox"/> ZR101-3	50000 U	2 ml	一份

Store at -20 °C 浓度: 200 units/μl

Lot #4BJ09J

制品说明:

本制品是通过基因重组技术克隆表达的点突变耐热温度提高到50°C的MMuLV反转录酶。野生型的M-MuLV 包含的RNase H活性能够催化降解DNA/RNA杂合体中的RNA, 因此在cDNA第一条链的合成反应中可能会降解RNA/DNA杂合体中的模板RNA。本酶M-MuLV(RNase H⁻)的RNase H活性缺失且耐热温度高, 与M-MuLV 相比, 具有更强的延伸能力和稳定性, 可用于较长的cDNA合成以及高比例的全长cDNA文库的构建等。

适用范围:第一链cDNA合成。可用低拷贝基因的检测。

特点:合成cDNA片段长度最高可达12 kb。

第一链cDNA合成(以20 μl反应体系为例)

1. 加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	10 ng-5 μg/1-500 ng
Oligo(dT)18(0.5 μg /μl)or	1 μl
Random Primer(0.1 μg/μl) or	1 μl
GSP (Gene Specific Primer)	2 pmol
10 mM dNTPs	1 μl
5×RT Buffer(含DTT)	4 μl
Ribonuclease Inhibitor (40 units/μl)	0.5 μl
M-MLV	1 μl
ddH2O to final volume	20 μl



2. 轻轻混匀

如用Oligo(dT)18或基因特异引物(GSP), 45°C孵育50min。

如用Random Primer, 25°C孵育10 min, 45°C孵育50 min。

3. 70°C 保温15分钟后置冰上冷却, 得到cDNA。该产物可直接用于第二链的合成或 RT- PCR扩增反应, 保存请置于-20°C。

RT-PCR

建议取1/10-1/5 体积(2-4 μ l)的反转录产物作为PCR模板。

建议PCR条件(以50 μ l反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
cDNA Template	2 μ l	as required
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l	0.2 μ M each
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l	0.2 μ M each
10 \times Taq Buffer (含Mg ²⁺)	5 μ l	1 \times
2.5 mM dNTPs	4 μ l	0.2 mM
Taq DNA Polymerase	0.5 μ l	2.5 units
ddH ₂ O to final volume	50 μ l	Not applicable

PCR 循环

94°C 2-5 min

94°C 30 sec

50-60°C 30 sec

72°C 1-2 kb/min

72°C 5-10 min

4°C ∞

30-40 cycles

注意事项:

- 避免RNase污染。
- 为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。