

PrimeScript™ Reverse Transcriptase

Code No. 2680A

包装量: 10,000 U
浓度: 200 U/μl

附带试剂:

5X PrimeScript Buffer 500 μl

制品说明:

PrimeScript Reverse Transcriptase 是一种改良的 M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus) 反转录酶。本酶具有很强的延伸能力, 能够有效地合成 1st-strand cDNA, 即使对有复杂二级结构的 RNA, 在 42°C 条件下也能得到良好的反应效果, 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。本酶适合于长链 cDNA 的合成及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。

酶贮存溶液:

20 mM	Tris-HCl, pH7.8
100 mM	NaCl
1 mM	EDTA
1 mM	DTT
50%	Glycerol(v/v)

保存: -20°C

起源:

E. coli carrying the plasmid that encodes reverse transcriptase gene.

活性定义:

以 poly(rA) · oligo(dT)₁₂₋₁₈ 为模板/引物, 在 37°C 的条件下, 10 分钟内掺入 1 nmol [³H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (unit)。

活性定义反应液:

50 mM	Tris-HCl, pH8.3
75 mM	KCl
8 mM	MgCl ₂
10 mM	DTT
20 μg/ml	(rA) _n · (dT) ₁₂₋₁₈
0.5 mM	[³ H] dTTP
0.1%	NP-40

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

http://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php

用途:

- 1st-Strand cDNA 的合成。
- cDNA Probe 的制备。
- RT-PCR。

添附Buffer组成 (保存: -20°C):

5X PrimeScript Buffer (用于cDNA合成)	
250 mM	Tris-HCl, pH8.3
375 mM	KCl
15 mM	MgCl ₂

1st-Strand cDNA 合成实验操作方法:

- 在 Microtube 中配制下列混合液:

Oligo dT primer	50 pmol
(or Random primer(6 mers)	50 pmol)
(or Gene specific primer	2 pmol)
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μl
Template RNA total RNA ≤ 5 μg, mRNA ≤ 1 μg	
RNase free dH ₂ O	up to 10 μl
- 65°C 加热 5 分钟, 冰上急冷。
- 在上述管中配制如下反应液至总体积为 20 μl。

Template RNA/Primer mixture	10 μl
5X PrimeScript Buffer	4 μl
RNase Inhibitor	20 U
PrimeScript Reverse Transcriptase	100-200 U*1
RNase free dH ₂ O	up to 20 μl

*1: 100 U 推荐用于 RT-PCR 和 cDNA 克隆; 200 U 推荐用于定量分析, 例如定量 PCR。
- 轻轻混匀。
- 按如下条件进行反应。

30°C	10 min*1
42(-50)°C*2	30-60 min

*1: 随机引物需要此步骤。
*2: PrimeScript Reverse Transcriptase 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°C 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°C。
*3: 大多数情况下 30 min 即可, 但如果目的片段过长, 需延长至 60 min。
- 70°C 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。

PrimeScript is a trademark of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用, 不能用于人、动物的医疗或诊断程序, 不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准, 不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品, 或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权, 请联系我们, 或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术(北京)有限公司翻译制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品, 您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v201902Da