

PrimeScript™ III Reverse Transcriptase

Code No. TCH004

包装量: 10,000 U

浓度: 200 U/μl

附带试剂:

5X PrimeScript III Buffer

500 μl

制品说明:

PrimeScript™ III Reverse Transcriptase 是一种经基因工程改良的 M-MLV(Moloney Murine Leukemia Virus)反转录酶。该酶在保留 PrimeScript 系列 RTase 的高特异性、高灵敏度和高延伸性等优点的同时, 相对于 PrimeScript RTase 具有更好的热稳定性, 可在更高的温度下进行反应 (~55°C), 更适用于复杂二级结构 RNA 起始的 cDNA 合成, 具有更好的高 GC 含量 target RNA 反转录效率和更好的综合性能。本酶适合于长链 cDNA 的合成及高比例的全长 cDNA 文库的构建及 RT-LAMP 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%	NP40

质量控制:

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

<https://www.takarabiomed.com.cn/>

用途:

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

1st-Strand cDNA 合成实验操作方法:

1. 在 Microtube 中配制下列混合液:

Oligo dT primer	50 pmol
(or Gene specific primer	2 pmol)
Template RNA	total RNA ≤ 5 μg, mRNA ≤ 1 μg
RNase free dH ₂ O	up to 10 μl

2. 65°C 加热 5 分钟, 冰上急冷。

3. 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 III Buffer	4 μl
RNase Inhibitor	20 U
PrimeScript III RTase	100-200 U
RNase free dH ₂ O	up to 20 μl

4. 轻轻混匀。

5. 按如下条件进行反应。

50°C*1 30-60 min*2

*1: 50°C 反应适用于大多数情况。当使用 Gene specific primer, 反应温度可设为 50-55°C, 有利于提高特异性。当应对二级结构复杂的 RNA 模板时, 反应温度设为 50-55°C, 可能得到更好的效果。

*2: 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。

6. 80°C 加热 10 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, 请联络我们, 或访问我们网站 www.takarabio.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)有限公司制作, 最新版本文件请参考 Takara Bio (中国) 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。

v202308Da