



欧凯生物

SRT 逆转录酶 (M-MLV) 说明书

SRT Reverse Transcriptase (M-MLV)



www.OkayBio.com



400-1600-986

产品描述

SRT Reverse Transcriptase 是经过基因改造的 M-MLV 逆转录酶，通过引入突变来降低 RNase H 活性，改进热稳定性。SRT Reverse Transcriptase 可广泛应用于 RT-PCR、cDNA 第一链合成等。

产品组分

货号	名称	规格
R267n7	SRT Reverse Transcriptase ^{*a} (200 U/μl)	2000 Units
B1578	5 X RT Buffer	50 μl

*a. 酶保存液为 20 mM Tris-HCl (pH 7.5) 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0.01% (v/v) NP-40, 50% (v/v) glycerol。

活性定义

以 Poly(A)/Oligo(dT)为模板/引物，在 37°C的条件下，10 分钟内催化 1 nmol dTTP 掺入酸不溶性物质中所需要的酶量定义为 1 个活性单位(unit)。

第一链 cDNA 合成操作步骤

1. 各组分取出后在冰上融解，涡旋混匀后瞬时离心，然后在 RNase-free 离心管中配制下列混合液：

组分	使用量
RNA 模板	Total RNA ≤ 5 μg, 或 mRNA ≤ 500 ng
Oligo (dT) (50 μM)	50 pmol
或随机引物	或 50-250 ng
或特异引物	或 2 pmol
dNTPs (10 mM)	1 μl
RNase-free ddH ₂ O	补充至 13 μl

2. 65°C 孵育 5min，然后立即转至冰上孵育至少 1min，短暂离心收集反应液。

3. 在上述管中配制如下反应液至总体积为 20 μl。

组分	使用量
步骤 1 中反应液	13 μl
5 X RT Buffer	4 μl
DTT (0.1 M)	1 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl)	1 μl
SRT Reverse Transcriptase (200 U/μl)	1 μl

使用振荡器轻轻涡旋混匀，瞬时离心后置于冰上。

4. 按照如下条件进行逆转录反应。

温度	时间
25°C ^{*b}	5min
50°C ^{*c}	30~60min
70°C	15min

*b. 使用随机引物时，添加此步骤。

*c. 使用特异引物或 GC 含量高的模板以及复杂模板时，建议使用温度提高至 55°C。

5. 合成的 cDNA 可用于后续 PCR 或 qPCR 等实验。

保存温度

-20°C 或更低温度长期保存。

注意事项

本产品仅作为科研用途。

未经本公司授权或批准，不得制造、销售本品；如您需要许可授权，请联系我们。