

Transcript[®] II Reverse Transcriptase [M-MLV, RNaseH](High Temperature RT)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AH101

保存: -20°C保存两年。

浓度: 200 units/μl

产品说明

Transcript[®] II Reverse Transcriptase 是对Transcript[®] RT基因改造(提高热稳定性), 在大肠杆菌中表达纯化得到的高温反转录酶, 无RNaseH活性。该酶可在42°C-55°C(高温有利于打开RNA二级结构)条件下合成第一链cDNA, 最佳反应温度50°C。具有灵敏度高、特异性高、聚合能力强(较多的全长cDNA)、热稳定性高和半衰期长的特点。

特点

- 高热稳定性: 反应温度42°C-55°C。
- 高特异性、高合成量、强聚合能力。
- 无RNase H活性, 避免了第一链cDNA合成反应中DNA/RNA杂交体中模板RNA被降解, 从而保证第一链cDNA合成量和长度。
- Anchored Oligo(dT)₂₀设计独特, 能锚定紧邻mRNA Poly(A)⁺ 5'端的第一个碱基, 结合位点锚定, 特异性高, 保证第一链cDNA 合成效率和成功率。
- 合成片段≤15 kb。

适用范围

- cDNA 文库构建、引物延伸、3'和5'RACE。
- 高拷贝、低拷贝基因检测。
- 高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。

产品组成

Component	AH101-02
Transcript [®] II RT	10000 U
10×TS II RT Buffer	100 μl
Anchored Oligo(dT) ₂₀ Primer (0.5 μg/μl)	50 μl

使用前, 请将各组分点甩离心。

第一链cDNA合成

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 μg/5-500 ng
Anchored Oligo(dT) ₂₀ Primer (0.5 μg/μl)	1 μl
or Random Primer(N9) (0.1 μg/μl)	1 μl
or GSP	2 pmol
10 mM dNTPs	1 μl
10×TS II RT Buffer	2 μl
Ribonuclease Inhibitor (50 units/μl)	0.5 μl
Transcript [®] II RT	1 μl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 μl



对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议将RNA模板、引物与RNase-free Water混匀，65°C孵育5分钟后，冰浴2分钟，然后再加入其它反应组分。

2、轻轻混匀

- 如用Anchored Oligo(dT)₂₀或基因特异引物(GSP)，50°C孵育 30分钟。
- 如用Random Primer (N9)，25°C孵育10分钟后，50°C孵育 30分钟。
- 对于高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板，可以选择55°C孵育30分钟。

3、85°C加热5秒钟失活*TransScript*[®] II RT。

推荐PCR体系与条件 (以50 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
2× <i>TransTaq</i> [®] HiFi PCR SuperMix II	25 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 μl	-

PCR

94°C	2-5 min	} 30-40 cycles
94°C	30 sec	
50-60°C	30 sec	
72°C	1-2 kb/min	
72°C	5-10 min	

注意事项

- 避免RNase污染。
- 为保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 一步混匀所有的反应组分可以成功完成大多数反转录反应。对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议按照说明书增加模板与引物的热孵育步骤。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

