

AipScript H Minus M-MuLV Reverse Transcriptase

AipScript 普通型 M-MuLV 逆转录酶(RNase H 活性缺失)

使用说明书

目录号: OP101

目录编号	包装单位
NS001-01	10KU
NS001-02	5*10KU

组成	NS001-01	NS001-02
AipScript H ⁻ RTase(200U/μL)	10KU	5×10KU
5× RT Buffer	500μL	3×500μL

产品储存: 4°C运输, -20°C保存, 有效期 12 个月。

产品浓度: 200 units/μL

制品说明:

本制品使用通过基因重组技术克隆表达的点突变型 RNase H 活性缺失的 M-MuLV 反转录酶 AipScript H⁻ RTase。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。

本制品 M-MuLV(RNase H⁻)的 RNase H 活性缺失, 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。可用于低拷贝基因的检测。

制品特点: 合成 cDNA 片段长度最高可达 12kb。

第一链cDNA合成: (以20μL反应体系为例)

1. 加入:

Components	Volume(20μL)
Total RNA/mRNA	50ng-5μg/5-500ng
Oligo(dT) ₁₈ (0.5μg/μL)or Random Primer(0.1μg/μL) or	1μL
	1μL

GSP(Gene Specific Primer)	2 pmol
dNTP Mixture(10mM each)	1μL
5× RT Buffer	4μL
RNase Inhibitor(40 units/μL)	0.5μL
AipScript H ⁻ RTase	0.8-1μL(见注意事项 3)
RNase-free Water to final volume	20μL

2. 轻轻混匀:

如用Oligo(dT)₁₈或基因特异引物(GSP), 42°C孵育30-50min。

如用Random Primer, 25°C孵育10 min, 42°C孵育30-50 min。

3. 65°C加热15 min(或者85°C加热5 min)失活AipScript H⁻ RTase。

RT-PCR: 建议取1/10-1/5体积(2-4μL)的反转录产物作为PCR模板。

建议PCR条件: (以20μL或50μL反应体系为例)

Components	Volume(20μL)	Volume(50μL)	Final Concentration
cDNA Template	0.8μL	2μL	as required
Forward Primer(10μM)	0.4μL	1μL	0.2μM each
Reverse Primer(10μM)	0.4μL	1μL	0.2μM each
10× Taq Buffer(含Mg ²⁺)	2μL	5μL	1×
2.5mM dNTPs	1.6μL	4μL	0.2mM
Taq DNA Polymerase	0.2μL	0.5μL	2.5 units
ddH ₂ O to final volume	20μL	50μL	Not applicable

PCR循环:

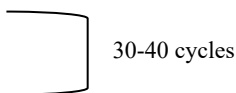
94°C: 2-5 min

94°C: 30 sec

50-60°C: 30 sec

72°C: 1-2kb/min

72°C: 5-10 min



注意事项:

1. 避免RNase污染, 为保证反转录成功, 建议使用高质量的RNA样品。
2. 如果RNA模板GC含量丰富或者有复杂二级结构, 可以先只加RNA模板、引物 and RNase-free Water混匀, 65°C变性5分钟, 冰上冷却, 短暂离心后加入其它成分继续下面的反转录步骤。
3. AipScript H⁻ RTase非常粘稠, 溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失, 用前请点甩

离心后使用，并且避免吸头外壁沾附损失。可以每次按照0.8μL使用，也不影响使用效果。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

