# M-MLV 4 Reverse Transcriptase

**产品信息：**

| 组成 | AT303-01 | AT303-02 |
|---|---|---|
| M-MLV 4 (200U/μl) | 10000U | 10000U×5 |
| 5×RT Buffer | 500ul | 500ul×5 |

**储存条件：**-20℃保存两年。

**制品说明：**

本制品是通过基因重组技术改造，在大肠杆菌中表达纯化得到的高温反转录酶，去除 RNaseH 活性。该酶可在 42℃-65℃条件下合成第一链 cDNA，具有灵敏度高，特异性高，热稳定性高和半衰期长的特点。聚合能力强，具有更强的延伸能力，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。可用高拷贝、低拷贝基因的检测。

**第一链cDNA合成**(以20μl反应体系为例)

1.加入

| Components | Volume |
|---|---|
| Total RNA/mRNA | 50 ng-5μg/5-500ng |
| Anchored Oligo$(dT)_{18}$(0.5 μg /μl) | 1μl |
| or Random Primer(N9)(0.1 μg/μl) | 1μl |
| or GSP | 2pmol |
| 10mM dNTPs | 1μl |
| 5× RT Buffer | 4μl |
| Ribonuclease Inhibitor（50 units/μl） | 0.5μl |
| M-MLV 4 | 1μl |
| $H_2O$(RNase free) to final volume | 20μl |

2. 轻轻混匀

如用Anchored Oligo$(dT)_{18}$或基因特异引物(GSP)，50℃孵育30min。（注：根据具体实验情况，可50℃孵育时间为5min-30min）

如用Random Primer(N9)，25℃孵育10 min，50℃孵育30 min。

对高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板，可选择55℃孵育30min.

3. 85℃加热15 min失活M-MLV 4。

## PCR

**1.PCR体系**(以50 μl反应体系为例)

建议取1/10-1/5 体积(2-4 μl)的反转录产物作为PCR模板。

| Components | Volume | Final Concentration |
|---|---|---|
| Template | 2μl | as required |
| Forward Primer (10 μM) | 1μl | 0.2μM each |
| Reverse Primer (10 μM) | 1μl | 0.2μM each |
| 10×Taq Buffer (含$Mg^{2+}$) | 5μl | 1× |
| 2.5 mM dNTPs | 4μl | 0.2mM |
| Taq DNA Polymerase | 0.5-1μl | 2.5 units |
| $ddH_2O$ to final volume | 50μl | Not applicable |

**2.PCR 循环**

| | | |
|---|---|---|
| 94℃ | 2-5min | |
| 94℃ | 30sec | 30-40 cycles |
| 50-60℃ | 30sec | 30-40 cycles |
| 72℃ | 1-2kb/min | 30-40 cycles |
| 72℃ | 5-10min | |

**注意事项:**

1.避免RNase污染。

2.为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。

BM190221