

## Thermostable Reverse Transcriptase

### 产品介绍

本产品 Thermostable Reverse Transcriptase 是在鼠源病毒反转录酶基础上进行定点突变改良而得，并去除了 RNaseH 活性，可耐受 65 °C 高温反应。与常规低温条件下反转录反应相比，采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构，提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度和产量，从而提高后续检测的灵敏度。

### 产品组成

组分	M6021 (10KU)	M6022 (50KU)
Thermostable Reverse Transcriptase(200U/μl)	50 μl	250 μl
5×RT Buffer	1 ml	5 ml

-20 °C 保存。

**活性定义：**以 poly(rA)为模板、oligo(dT)为引物，在 37 °C 条件下，10 分钟内催化 1 nmol 的 dTTP 掺入形成酸不溶性沉淀物所需要的酶量，定义为一个活性单位。

### 使用方法

- 将模板 RNA 和试剂在冰上解冻，使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀，简短离心以收集残留在管壁的液体到管底。
- 在 RNase free 管中冰上配制以下反应体系：

组分	体积
Total RNA/mRNA	0.1-2 μg
5×RT Buffer	4 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μl
20×Oligo dT & Random Primer 或特异性引物	1 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl)	0.5 μl
Thermostable Reverse Transcriptase	0.5-1 μl
RNase free H <sub>2</sub> O	补足 20 μl

\*注：Oligo dT(25) 使用浓度为 20~50 μM，随机引物可使用 125 μM，基因特异性引物可使用 5 μM。

- 移液器轻轻吹打混匀，放入 PCR 仪运行如下程序

温度	时间
30 °C	5 min
*37~65 °C	15~60 min
85 °C	10 min
4 °C	Hold

\*通常反转录温度设置为 50 °C。在采用 65 °C 反应条件时可显著提高 >75%GC 含量的 cDNA 产物。

- 得到的 cDNA 产物可立即用于 qPCR 反应，或在 -20 °C 保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在 -70 °C 保存。cDNA 应避免反复冻融。

**产品仅限科研使用，请勿直接用于诊断或治疗**