

PrimeScript™ II Reverse Transcriptase

Code No. 2690A

包装量: 10,000 U
浓度: 200 U/μl

附带试剂:

5X PrimeScript II Buffer 500 μl

制品说明:

PrimeScript II Reverse Transcriptase 在 42°C 条件下能够有效地合成低背景、高质量的 cDNA，无需进行高温反转录反应，高温的反转录反应会导致 RNA 的降解，且由于引物的有效使用和辅助蛋白质的添加，避免了因 RNA 二级结构对 cDNA 合成的抑制及 RT 引物错配引起的非特异性延伸。辅助蛋白质完全抑制了由于反转录酶冰上放置引起的非特异性延伸反应，因此，即便是反应液配制到反转录反应开始要间隔一段时间，也不会抑制长链 cDNA 的合成。合成的 cDNA 可以广泛应用于 2nd-strand 合成、杂交、终点 PCR 和定量 PCR，而且本酶特别适用于全长 cDNA 文库构建用的高质量 cDNA 合成等。

酶贮存溶液:

20 mM	Tris-HCl, pH7.8
100 mM	NaCl
1 mM	EDTA
1 mM	DTT
1%	Tween 20 (v/v)
50%	Glycerol (v/v)

保存: -20°C

起源:

Purified from an *E. coli* strain expressing a recombinant enzyme.

活性定义:

以 poly(rA) · oligo(dT)₁₂₋₁₈ 为模板/引物，在 37°C 的条件下，10 分钟内掺入 1 nmol [³H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (unit)。

活性定义反应液:

50 mM	Tris-HCl, pH8.3
75 mM	KCl
8 mM	MgCl ₂
10 mM	DTT
20 μg/ml	(rA) _n · (dT) ₁₂₋₁₈
0.5 mM	[³ H] dTTP
0.1%	NP-40

质量控制

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc. 网站中下载:

http://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php

用途:

1st-Strand cDNA 的合成。

- cDNA Probe 的制备。
- RT-PCR。

添附 Buffer 组成 (保存: -20°C):

5X PrimeScript II Buffer (用于 cDNA 合成)	
250 mM	Tris-HCl, pH8.3
375 mM	KCl
15 mM	MgCl ₂

1st-Strand cDNA 合成实验操作方法:

- 在 Microtube 中配制下列混合液:

Oligo dT primer	50 pmol
(or Random primer(6 mers)50 pmol(20-100 pmol ⁺))	
(or Gene specific primer	2 pmol)
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μl
Template RNA total RNA ≤ 5 μg ⁺ , mRNA ≤ 1 μg	
RNase free dH ₂ O	up to 10 μl
- 65°C 加热 5 分钟，冰上急冷。
- 在上述管中配制如下反应液至总体积为 20 μl。

Template RNA/Primer mixture	10 μl
5X PrimeScript II Buffer	4 μl
RNase Inhibitor	20 U
PrimeScript II RTase	200 U
RNase free dH ₂ O	up to 20 μl
- 轻轻混匀。
- 按如下条件进行反应。

30°C	10 min (使用 Random 6 mers 时)
42(-50)°C ^{±3}	30-60 min
- 70°C 加热 15 分钟后冰上冷却。
 - *1: 使用随机引物时，合成的 cDNA 链长超过 2 kb 时，使用 20-50 pmol 引物；合成的 cDNA 用于定量 PCR 时，使用 50-100 pmol 引物。
 - *2: 合成的 cDNA 用于定量 PCR 时，total RNA 起始量要低于 1 μg。
 - *3: PrimeScript II RTase 延伸能力强，通常情况下，即使模板 RNA 有复杂的二级结构，也可以在 42°C 下进行反转录反应。但当反转录引物使用 PCR 的下游引物时，由于引物错配的原因等易发生非特异性反应，这时可以将反转录反应温度设为 45-50°C。

得到的 cDNA 溶液可直接用于 2nd-Strand cDNA 的合成或者 PCR 扩增等。

PrimeScript is a trademark of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 Takara Bio Inc. 书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品，或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联系我们，或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日生物技术(北京)有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 Takara Bio Inc. 网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202012Da