

AccelerRT® III Reverse Transcriptase

Cat. No. PC026 (10,000U)
PC027 (50,000U)

产品内容	产品编号	规格
AccelerRT® III RTase (200U/μl)	PC026-01	50 μl
5x RT Reaction buffer	PC026-02	200 μl

保存条件：-20℃ 保存 12 个月，请注意避免反复冻融

■ 产品说明

AccelerRT® III Reverse Transcriptase是M-MLV的缺失突变型RNase H-的反转录酶。由于RNase H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。本酶的RNase H活性缺失，延伸能力强，可用于较长的cDNA合成以及Real Time RT-PCR反应等。

■ 来源

来自重组 E. coli 菌株，携带有突变的 MMuLV反转录酶（RNase H-）编码基因。

■ 酶活性单位定义

一个单位是指在 37℃、10 分钟条件下使用 poly(A)oligo(dT) 作为模板/引物，将 1nmole 脱氧核糖核酸掺入酸性可沉淀材料所需的酶量。

■ 应用

逆转录；第一链cDNA合成；RNA 病毒检测；RT-qPCR

■ 储存缓冲液

50mM Tris-HCl,150mM NaCl,0.1mM EDTA, 1mM DTT ,0.1% NP-40, 50% Glycerol, (pH7.6@25℃)。

■ 实验步骤

1) 将模板RNA冰上解冻, AccelerRT® III RTase 放在冰上, 引物、5x RT Reaction buffer、dNTP Mix、RNase-Free ddH₂O在室温解冻, 解冻后立刻放在冰上。将溶液混匀后简短离心。

2) 在反应管加入下表组分, 配置混合液1:

组分	体积(用量)
RNA模板	1pg-1µg total RNA 或1pg-250ng mRNA
50µM Oligo dT18或者 250 µM Random Primer或者 10uM 特异引物	1µL
dNTP Mix(10 mM)	1µL
RNase-Free ddH ₂ O	补充至 10ul

3) 混匀后简短离心, 65℃孵育5min后立刻放在冰上2-5min。

4) 在上述反应液中继续加入下表的反应组分混合好的10µL混合液2 :

组分	体积(用量)
上述反应液	10 µL
5x RT Reaction buffe	4µL
AccelerRT® III RTase (200U/µl)	1µL
RNase inhibitor(25U/ul)	1µL
RNase-Free ddH ₂ O	4µL
Total	20µL

5) 25℃ 10min, 50℃ 30min, 失活85℃ 5min, 16℃∞。如果反转录引物为Oligo dT或者特异引物, 则不需要进行25℃反应。

■ 注意事项

1. 用于实验反应过程的溶液试剂、器具、枪头、离心管等尽量DEPD水处理, 并在高压灭菌后试用; 做实验是戴上一次性手套。
2. RNA避免多次反复冻融, 以及含有基因组DNA污染。
3. 使用酶时, 要将液体离心到管底部, 由于酶的粘稠度, 吸取时应慢慢吸取。
4. 逆转录产物用于下一步PCR或qPCR实验, cDNA的加入体积不能超过反应体系总体积的1/10。

该产品仅限于实验科学研究用, 若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途, 本公司概不承担任何责任。



地址: 广州高新技术产业开发区广州科学城揽月路 3 号 F 区 F801
电话: 020-28069288 / 020-28069233

邮编: 510663
网址: www.igenebio.com