

# EasyScript<sup>®</sup> Reverse Transcriptase [ M-MLV, RNaseH ]

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AE101

保存: -20°C保存两年。

浓度: 200 units/μl

## 产品说明

EasyScript<sup>®</sup> Reverse Transcriptase 是克隆有突变的M-MLV(莫洛尼鼠白血病毒)逆转录酶基因的载体在大肠杆菌中表达纯化而成。无RNase H活性, 具有合成效率高、热稳定性好和半衰期长的特点。

## 特点

- 无RNase H活性, 避免了第一链cDNA合成反应中DNA/RNA杂交体中模板RNA被降解, 从而保证第一链cDNA合成量和长度。
- Anchored Oligo(dT)<sub>18</sub>设计独特, 能锚定紧邻mRNA Poly(A)<sup>+</sup> 5'端的第一个碱基, 结合位点锚定, 特异性高, 保证第一链 cDNA 合成效率和成功率。
- 合成片段≤8 kb。

## 适用范围

高拷贝基因检测。

## 产品组成

Component	AE101-02	AE101-03
EasyScript <sup>®</sup> RT	10000 U	5×10000 U
5×ES RT Buffer	200 μl	5×200 μl
Anchored Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer (0.5 μg/μl)	50 μl	250 μl

使用前, 请将各组分点甩离心。

## 第一链cDNA合成

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	0.1 ng-5 μg/10 pg-500 ng
Anchored Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer (0.5 μg/μl)	1 μl
or Random Primer(N9) (0.1 μg/μl)	1 μl
or GSP	2 pmol
10 mM dNTPs	1 μl
5×ES RT Buffer	4 μl
Ribonuclease Inhibitor (50 units/μl)	0.5 μl
EasyScript <sup>®</sup> RT	1 μl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 μl



## 2、轻轻混匀

- 如用Anchored Oligo(dT)<sub>18</sub> 或基因特异引物(GSP), 42°C孵育30分钟。
- 如用Random Primer, 25°C孵育10分钟后, 42°C孵育30分钟。

## 3、85°C加热5秒钟失活EasyScript® RT。

### 推荐PCR体系与条件 (以50 μl反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	1 μl	0.2 μM
2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II	25 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 μl	-

### PCR

94°C	2-5 min	} 35-40 cycles
94°C	30 sec	
50-60°C	30 sec	
72°C	1-2 kb/min	
72°C	5-10 min	

### 注意事项

- 避免RNase污染。
- 为保证反转录成功, 请使用高质量的RNA模板。
- 对于复杂RNA模板, 或为了获得更高的合成效率, 建议将RNA模板、引物与RNase-free Water混匀, 65°C孵育5分钟后, 冰浴2分钟, 然后再加入其它反应组分。
- 一步混匀所有的反应组分可以成功完成大多数反转录反应。对于复杂RNA模板, 或为了获得更高的合成效率, 建议按照说明书增加模板与引物的热孵育步骤。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com.cn

