

GDSLyo Gold 逆转录酶

货号/规格: R3001L/10,000 U, R3002L/40,000 U

产品简介

GDSLyo Gold 逆转录酶是无甘油版的 Gold 逆转录酶(#R3001), 适合制备冻干试剂。Gold 逆转录酶是通过基因重组技术改造 M-MLV 得到的耐热逆转录酶, 具有更高的热稳定性, 可在 50℃-55℃ 条件下合成第一链 cDNA。同时该酶去除了 RNaseH 活性, 对于常见的逆转录反应抑制剂具有较高的耐受度, cDNA 合成能力更强, 可用于复杂二级结构的 RNA 逆转录, 能够合成较长的 cDNA 以及构建高比例的全长 cDNA 文库等。

产品组成

Component	R3001L	R3002L
GDSLyo Gold 逆转录酶 (200 U/μl)	50 μl	200 μl
5X GDSLyo Gold Buffer	200 μl	800 μl

注: 本产品不含冻干保护剂。如需进行冷冻干燥处理, 可单独选购 (#P9141, 4X Lyoprotectant), 该保护剂可在冻干过程中有效保护酶活性。

保存条件

-30 ~ -15℃ 保存。

应用范围

用于制备 RNA 逆转录相关的冻干试剂, 尤其是一步法 RT-qPCR 试剂。

活性定义

以 Poly (rA)·Oligo (dT) 为模板/引物, 在 37℃, 10 min 条件下, 使 1 nmol 的 dTTP 掺入酸性沉淀物质所需要的酶量定义为 1 个活性单位(U)。

应用举例

后续实验为 qPCR:

1. 配制第一链 cDNA 合成反应液

按以下体系于 RNase-free 的离心管中配制逆转录反应液:

Component	Amount
RNase-free ddH ₂ O	to 20 μl
5X GDSLyo Gold Buffer	4 μl
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
GDSLyo Gold 逆转录酶 (200 U/μl)	1 μl
RNase inhibitor (40 U/μl)	1 μl
Oligo (dT) ₁₅ Primer (50 μM) ^[1]	1 μl
Random Primer (100 μM) ^[1]	1 μl
Total RNA	10 pg ~ 1 μg
/ Poly A ⁺ RNA	10 pg ~ 100 ng

[1] 当后续实验为 qPCR 时, 建议混合使用 Oligo dT 和 Random Primer 各 1 μl, 提高定量结果的准确性。

2. 设定程序进行逆转录反应

将上述混合物充分混匀后按以下条件进行逆转录反应:

Temperature	Time
25℃	5 min
50℃ ^[1]	15 min ^[2]
85℃	2 min

[1] 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域, 可将反应温度提高至 55℃, 有助于提高产量。

[2] 反应时间可缩短至 2 min。

产物可立即进行 qPCR 反应, 或保存于 -20℃ 及以下环境中, 并避免反复冻融。

注意事项

1. 请使用高质量的 RNA, 保证逆转录反应的效率
2. 在逆转录反应中注意防止 RNase 污染

本品仅供科学研究使用。