

MaxScript 逆转录酶

货号/规格: R3021/2,000 U, R3022/10,000 U

产品简介

MaxScript 逆转录酶是通过基因重组技术改造 *M-MLV (RNase H-)* 得到的耐热逆转录酶, 具有更高的热稳定性, 可在 55°C 长时间反应而保持稳定, 非常适合具有复杂二级结构的 RNA 模板的逆转录。该酶具有较强的模板亲和力, 可获得长达 20 kb 的 cDNA。非常耐受多糖多酚等逆转录抑制物, 适合合成全长 cDNA。

产品组成

Component	R3021	R3022
MaxScript 逆转录酶 (200 U/μl)	10 μl	50 μl
5X MaxScript Buffer	100 μl	500 μl

活性定义

以 Poly (rA)·Oligo (dT) 为模板/引物, 在 37°C, 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)。

保存条件

-30 ~ -15°C 保存。

应用举例

A. 后续实验为 PCR

1. RNA 模板变性

按以下体系于 RNase-free 的离心管中配制反应液:

Component	Amount
RNase-free ddH ₂ O	to 13 μl
Oligo (dT) ₁₅ Primer (50 μM) ^[1]	
/ Random Primer (100 μM) ^[1]	1 μl
/ Gene Specific Primers (2 μM) ^[1]	
Total RNA	10 pg ~ 5 μg
/ Poly A ⁺ RNA	10 pg ~ 500 ng
Total	13 μl

[1] 请根据实验需要选择合适的引物: Oligo dT 引物仅转录 mRNA, Random Primer 可转录所有类型的 RNA, 特异性引物仅转录特异的 RNA 片段。

于 65°C 加热 5 min, 再置于冰上迅速冷却 2 min。

* RNA 模板变性有助于打开二级结构, 可在很大程度上提高第一链 cDNA 的产量。对于长度超过 3 kb 的 cDNA 片段, 请勿省略变性步骤。

2. 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
上一步的反应液	13 μl
5X MaxScript Buffer	4 μl
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
MaxScript 逆转录酶 (200 U/μl)	1 μl
RNase inhibitor (40 U/μl)	1 μl
Total	20 μl

用移液器轻轻吹打混匀。

3. 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°C ^[1]	5 min
50°C ^[2]	45 min
85°C	2 min

[1] 仅当使用 Random Primer 时需要此步, 当使用 Oligo (dT)₁₅ Primer 或特异性引物时无需进行此步。

[2] 当模板 RNA 具有复杂的二级结构或者高 GC 含量时, 可将温度提高至 55°C。

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

本品仅供科学研究使用。

B. 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 μ l
5X MaxScript Buffer	4 μ l
dNTP Mix (10 mM each)	1 μ l
MaxScript 逆转录酶 (200 U/ μ l)	1 μ l
RNase inhibitor (40 U/ μ l)	1 μ l
Oligo (dT) ₁₅ Primer (50 μ M) ^[1]	1 μ l
Random Primer (100 μ M) ^[1]	1 μ l
Total RNA	10 pg ~ 1 μ g
/ Poly A ⁺ RNA	10 pg ~ 100 ng
Total	20 μ l

[1] 当后续实验为 qPCR 时，建议混合使用 Oligo dT 和 Random Primer 各 1 μ l，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°C ^[1]	5 min
50°C ^[1]	15 min
85°C	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。

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