



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)

产品编号	产品名称	包装
D7159	BeyoRT™ M-MuLV 反转录酶(RNase H-)	2000U

产品简介:

- BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-), 即BeyoRT™ M-MuLV Reverse Transcriptase (RNase H minus)是一种经过改造和优化的M-MuLV反转录酶(RNase H-)。和普通的M-MuLV反转录酶相比, BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)也是一种依赖于RNA或DNA模板的DNA聚合酶, 可以以RNA或DNA为模板在引物存在的情况下完成互补DNA链的合成; 但缺失了Ribonuclease H (RNase H)酶活性, 不能够选择性剪切RNA和DNA杂合双链中的RNA。BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)是最常用的反转录酶之一。
- **特点:** BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)可以合成长达13kb的cDNA, 而普通的M-MuLV反转录酶(RNase H-)仅能合成长达9kb的cDNA; BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)的最适反应温度为42-45°C并且在55°C时仍然有很高活性, 可以避免普通的M-MuLV反转录酶(RNase H-)在37°C反应时的一些不足。
- **用途:** BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)常用于在获得总RNA或mRNA后cDNA第一条链的合成。BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)合成的cDNA第一条链后续可以用于PCR、real-time PCR、cDNA第二条链的合成等。BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)也可以用于DNA探针的标记, 通过引物延伸(primer extension)来分析RNA, 以及用于基因芯片荧光探针的标记。
- **来源:** 本BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)由大肠杆菌表达, 表达的基因为经过突变优化的编码Moloney Murine Leukemia Virus reverse transcriptase的pol基因片段。
- **活性定义:** One unit of the enzyme incorporates 1 nmol of dTMP into a polynucleotide fraction in 10 min at 37°C. Enzyme activity is assayed in 50 mM Tris-HCl (pH 8.3), 6 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 40 mM KCl, 0.5 mM dTTP, 0.4 MBq/ml [³H]-dTTP, 0.4 mM polyA•oligo(dT)₁₂₋₁₈.
- **纯度:** 不含DNA内切酶、外切酶和磷酸酯酶和RNA酶, 可以满足常规反转录合成cDNA第一条链等的需要。
- **酶储存溶液:** 50 mM Tris, pH 8.3, 100mM NaCl, 1 mM EDTA, 5 mM DTT, 0.1% Triton X-100 and 50% glycerol。
- **Reaction Buffer (5X):** 250 mM Tris, pH 8.3 at 25°C, 250 mM KCl, 20 mM MgCl₂, 50 mM DTT。
- **失活或抑制:** 70°C孵育10分钟可以导致BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)失活; EDTA、EGTA等螯合剂、无机磷酸盐或焦磷酸盐以及聚氨(polyamine)对BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)有抑制作用。
- 本产品中BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)的浓度为200U/μl, 用于体积为20微升的反转录体系时足够进行10次反转录反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7159-1	BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7159-2	Reaction Buffer (5X)	0.2ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 对于GC含量比较高的RNA的反转录, 试剂盒的使用说明中给予了特别说明, 请予以关注。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. cDNA第一条链的合成(First-strand cDNA Synthesis):

a. 参考如下表格设置反转录反应:

模板(后面3种任选一种)	Total RNA	0.01-5μg
	或Poly(A) RNA/mRNA	1-500ng
	或Specific RNA	0.01pg-500ng

引物(后面3种任选一种)	Oligo(dT) ₁₈	0.5µg (或100pmol)
	random hexamer	0.2µg (或100pmol)
	Gene specific primer	15-25pmol
DEPC-treated Water	—	To 13.7µl*
Reaction Buffer (5X)	—	4µl
RNase Inhibitor	—	0.5µl**
dNTP Mix (25 mM each)	—	0.8µl ***
BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)	—	1µl
总体积		20µl

* To 13.7µl表示加入DEPC-treated Water至最终体积为13.7µl。**注意：**对于GC含量比较高的RNA模板的反转录反应，加入DEPC-treated Water混匀后微离心，接着可以在65°C孵育5分钟，随后立即置于冰浴以打开RNA的一些比较稳定的二级结构。

**RNase Inhibitor可以视其本身的情况加入适当的量，例如0.5µl或其他适当体积。在加入其他体积时，DEPC-treated Water的用量需适当调整。

***dNTP浓度不同时使用的体积需作适当调整，此时DEPC-treated Water的用量需适当调整。

- 轻轻混匀(可以用Vortex在最低速度轻轻混匀或用移液器吹打混匀)，随后离心沉淀液体。
 - 如果使用Oligo(dT)₁₈作为引物或使用基因特异性引物，在42°C孵育60分钟。如果使用random hexamer(随机六聚体)作为引物，先在25°C孵育10分钟，随后在42°C孵育60分钟。**注意：**对于GC含量比较高的RNA模板的反转录反应，可以设置为45°C孵育60分钟。
 - 70°C孵育10分钟以失活BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)并终止反转录反应。说明：对于长片段的cDNA不推荐采用加热的方法失活BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)，这种操作可能会导致部分长片段DNA被剪切。
 - 反转录产物可以直接用于后续的PCR等反应，也可以-20°C冻存以备以后使用。用于后续PCR反应时，如果PCR的反应体系为50微升，则推荐使用2微升反转录产物。
2. 其他用途请自行参考M-MuLV反转录酶(RNase H-)的相关文献资料进行。

常见问题：

- 总RNA反转录产物电泳观察不到。
反转录产物由于是从模板反转录而获得，而模板的量本身比较低，反转录的量通常还要少于模板量，因此通常总RNA的反转录产物直接电泳观察是观察不到的。
- 反转录产物通过PCR扩增没有特异性条带。
PCR扩增没有获得特异性条带时建议先使用actin、GAPDH等作为内参进行PCR扩增，看是否可以成功扩增。如果可以成功，则说明PCR扩增体系没有问题，此时通常是目的基因的引物设计欠佳，当然也有可能是反转录产物质量欠佳。如果内参不能被很好地扩增，则有可能PCR体系存在问题或反转录产物质量欠佳。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7153	BeyoRT™ M-MLV反转录酶	2000U
D7159	BeyoRT™ M-MLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7160	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7161	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7162	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7166	BeyoRT™ cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	10次
D7167	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	20次
D7168	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	100次
D7172	cDNA第二链合成试剂盒	10次
D7205	Taq DNA Polymerase	200U
D7207	Taq DNA Polymerase	1000U
D7216	Pfu DNA Polymerase	200U
D7217	Pfu DNA Polymerase	1000U
D7218	BeyoTaq DNA Polymerase	200U
D7219	BeyoTaq DNA Polymerase	1000U
D7226	GC-rich PCR Buffer(4种套装)	共2ml
D7228	2X PCR Master Mix	400次
D7232	PCR Kit with Taq	400次
D7233	PCR Kit with Taq	2000次

D7237	PCR Kit with BeyoTaq	400次
D7251	Easy-Load™ PCR Master Mix (Blue, 2X)	400次
D7255	Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X)	400次
D7259	Easy-Load™ PCR Master Mix (Orange, 2X)	400次
D7371	dNTP Mixture(2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture(25mM each)	250μl
R0011	Beyozol(总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol(总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0102	RNase Inhibitor	2000U
ST036	DEPC	10g

使用本产品的文献：

1. Fei Liu,Lisong Wan,Haibin Zou,Zhengyue Pan,Wanming Zhou,Xiongbing Lu.PRMT7 promotes the growth of renal cell carcinoma through modulating the β -catenin/C-MYC axis INT J BIOCHEM CELL B. 2020 Mar;120:105686.;doi: 10.1016/j.biocel.2020.105686.

Version 2021.09.01