

TransScript® IV Reverse Transcriptase [M-MLV, RNase H⁻] (Anti Inhibition High Temperature RT) TransScript IV 反转录酶

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AW101

版本号: Version 1.0

保存: -18℃及其以下温度下保存两年。

浓度: 200 units/μl

产品说明

TransScript® IV Reverse Transcriptase 是经基因改造后在大肠杆菌中表达纯化得到的M-MLV高温反转录酶, 具有宽广的反应温度 (42℃-65℃) 和超高的热稳定性, 以及较强的抗抑制能力, 无RNase H活性。该酶可在42℃-65℃(高温有利于打开RNA二级结构)条件下合成第一链cDNA, 最佳反应温度50℃, 具有**抗抑制能力强**、**反应速度快**、灵敏度高、特异性高、聚合能力强(较多的全长cDNA)、热稳定性高和半衰期长的特点。

特点

- 适用范围广: 可以降解严重的RNA为模板进行反转录。
- 抗抑制能力强: 对RNA中残留的抑制剂具有良好的抗性。
- 反应速度快: 10 分钟即可完成逆转录过程。
- 合成能力强: 合成长度可达20 kb。
- 热稳定性高: 反应温度42℃-65℃。
- 灵敏度高: 对微量RNA具有超强的检出率。

适用范围

- 高拷贝、低拷贝基因检测。
- 高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。
- 适用于难以处理的样本RNA: 降解的RNA模板和有RT酶抑制剂的RNA模板。
- cDNA文库构建, 引物延伸, 3'和5'RACE。

产品组成

Component	AW101-02
TransScript® IV Reverse Transcriptase	10000 units
10×TS IV RT Buffer	100 μl
Anchored Oligo(dT) ₂₀ Primer (0.5 μg /μl)	50 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) ₂₀ Primer (0.5 μg/μl)	1 μl
or Random Primer (0.1 μg/μl)	1 μl
or GSP	2 pmol
10 mM dNTPs	1 μl
10×TS IV RT Buffer	2 μl
Ribonuclease Inhibitor	0.5 μl
TransScript® IV Reverse Transcriptase	1 μl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 μl

2、轻轻混匀

- 如用Anchored Oligo(dT)₂₀或基因特异引物(GSP), 50℃孵育 10分钟。



- 如用Random Primer (N9), 25℃孵育10分钟后, 50℃孵育 10分钟。
- 对于高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板, 可适当升高反应温度 ($\leq 65^{\circ}\text{C}$)。

3、85℃加热5秒钟失活*TransScript*[®] IV Reverse Transcriptase。

推荐qPCR体系与条件 (以20 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2× <i>PerfectStart</i> [®] Green qPCR SuperMix	10 μl	1×
Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μl	-

qPCR (三步法)

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec
50-60℃ 15 sec ★
72℃ 10 sec ★

40-45 cycles

Dissociation Stage

对于ABI仪器, 荧光信号采集步骤 (三步法中可以是退火或是延伸步骤) 的时间如下

- ★使用ABI Prism 7700/7900时, 采集时间设定为30秒;
- ★使用ABI Prism 7000/7300时, 采集时间设定为31秒;
- ★使用ABI Prism 7500时, 采集时间设定为34秒;
- ★使用ABI ViiA 7时, 采集时间设定为至少19秒。

高扩增效率选择三步法。高特异性选择两步法。

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× <i>TransTaq</i> [®] HiFi PCR SuperMix II	25 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 μl	-

PCR

94℃ 2-5 min
94℃ 30 sec
50-60℃ 30 sec
72℃ 1-2 kb/min
72℃ 5-10 min

35-40 cycles

注意事项

- 避免RNase污染。
- 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℃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

