



北京百泰克生物技术有限公司
Bioteke Corporation

BioTeke supermoIII RT Kit

目录号: PR6611 PR6612 储存: -20℃

产品描述:

本试剂盒采用突变的莫洛尼氏鼠白血病病毒反转录酶 Supermo III M-MuLV, 该酶是在普通 M-MLV 基础上经过多次定点突变缺失了原酶中 RNaseH 活性, 同时增加了反转录酶的热稳定性和扩增活性。RNase H 能够降解 DNA/RNA 杂合体中的 RNA, 因此在 cDNA 第一条链的合成反应中会降低 cDNA 的扩增长度; 缺失了 RNase H 活性, 反转录可以得到更长的 Supermo III M-MLV; 同时由于引入特定的突变, 增加了 Supermo III M-MLV 的扩增活性, 使获得的 cDNA 更长。良好的耐热性能使该酶在反转录过程中可以有效克服模板 RNA 的二级结构, 以及 GC 含量高的 RNA。

产品组成:

组分名称	PR6611 (20次)	PR6612 (50次)	PR6613 (200次)
Supermo III M-MLV (200U/μl)	20ul	50μl	4×50μl
5×first-strand Buffer	100ul	250μl	1 ml
dNTP Mixture (10 mM each)	20ul	50μl	200μl
Rnase Inhibitor (40 U/μl)	20ul	50μl	200μl
Oligo(dT)18 Primer (50μM)	20ul	50μl	200μl
Rnase Free H ₂ O	400ul	1ml	5ml



北京百泰克生物技术有限公司
Bioteke Corporation

地 址: 北京海淀区留学人员创业园

电 话: 400-678-8982

传真: 010-62951781

网 址: www.bioteke.com

Email: info@bioteke.com

操作流程:

1. 按以下组分配制反转录反应液

Total RNA or Poly(A) RNA	0.2-2μg
Oligo dT or Random Primer (50μM)	1μl
dNTP Mixture (10mM each)	1μl
5×first-strand Buffer	4μl
M-MuLV Reverse Transcriptase (200U/μl)	1μl
Rnase Inhibitor (40U/μl)	1μl
Rnase Free dH ₂ O	Up to 20μl

2. 在PCR仪上按以下条件进行反转录反应:

- ①50°C, 45-60min;
- ②70°C, 10min;

之后随即冰上冷却，得到的cDNA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。

注意事项:

- 1. 用于 cDNA 合成的溶液试剂尽可能的 DEPC 进行处理，并在高压灭菌后使用。有些试剂不能高压灭菌时，首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后，再将溶液进行过滤除菌处理。
- 2. RNA 样品要避免基因组 DNA 的污染。
- 3. 避免反复多次冻融 RNA。
- 4. 试剂盒各组成成分应保存在-20°C。
- 5. cDNA 产物应保存在-20°C。

PCR 反应

- 1. 取 10%第一链反应液（2μl)转移到合适的无菌薄壁 PCR 管中。注意：根据基因的表达丰度和所提取的 RNA 的质量可适当调整第一链反应液的加量，25ul 的 PCR 体系中可加入 1-5ul 模板。
- 2. 按次序加入下列试剂：
5μl 10X PCR Buffer

- 1μl 10mM dNTP mix
- 1μl 10μM Primer #1 (用户自备)
- 1μl 10μM Primer #2 (用户自备)
- xμl H₂O (使反应总体积为 49 μl)
- 1μl Taq DNA polymerase

- 3. 扩增反应。根据用户引物的退火温和所扩增基因在原组织或细胞中的拷贝数，参考 Taq DNA polymerase 的技术参数，设定扩增条件。具体说明参见 Taq DNA 聚合酶说明书。通常循环 30-35 次。
- 4. DNA 扩增产物用 Agarose 电泳和 EB 染色观测。