

M-MLV GIV Reverse Transcriptase

REF: EG24101S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
M-MLV GIV Reverse Transcriptase (200 U/μl)	50 μl
5× M-MLV First Strand Buffer	500 μl
0.1 M DTT	100 μl

产品简介

M-MLV GIV Reverse Transcriptase 是通过基因修饰和重组技术获得的第四代 M-MLV 逆转录酶。该酶相对于野生型 M-MLV 逆转录酶去除了 RNase H 活性，并大幅提高了热稳定性（最适反应温度为 55°C），70°C 仍有 50% 活性，相较于前代酶进一步提高了对复杂二级结构的耐受性。该酶具有更快的反应速度，只需 10 分钟即可完成逆转录反应过程。该酶与模板亲和力更强，在低模板量或低拷贝模板时表现更佳。与此同时，该酶的全长 cDNA 合成能力也得到提升，最长可获得 20 kb 的全长 cDNA。

酶活定义

37°C 条件下，以 Poly(A)-Oligo(dT) 为模板 / 引物，在 10 min 内，掺入 1 nmol 的 [³H] dTTP 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测，蛋白纯度不低于 95%。

核酸内切酶残留检测

将酶液与超螺旋质粒 DNA 在 37°C 温育 4 h，通过 DNA 电泳检测质粒无变化。

核酸外切酶残留检测

将酶液与双链 DNA 底物在 37°C 温育 16 h，通过 DNA 电泳检测双链 DNA 底物无变化。

宿主DNA残留检测

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法，本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 /200 U。

使用方法

第一链 cDNA 合成步骤

1. 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
引物	X μl
Oligo(dT) ₂₀	终浓度 2.5 μM
或随机引物	终浓度 2.5 ng/μl
或基因特异性引物	终浓度 0.25 μM
模板 RNA ^a	50 ng~2 μg/20 μl
5× M-MLV First Strand Buffer	4 μl
0.1 M DTT	1 μl
M-MLV GIV Reverse Transcriptase (200 U/μl)	1 μl
dNTP Mix (10 mM Each)	1 μl
(可选) RNase Inhibitor (40 U/μl)	1 μl
Nuclease-Free Water	To 20 μl

- 推荐使用试剂盒提取的已去除基因组 DNA 污染的高质量 RNA 作为模板。
 - 轻柔吸打混匀后，瞬离；
 - 若使用 Oligo(dT)₂₀ 或基因特异性引物，55°C 温育 10 min；若使用随机引物，先 25°C 温育 5 min，之后 55°C 温育 10 min；
注：若目的 cDNA 小于 3 kb，温育时间可缩短为 5 min。对于高 GC 含量模板或者复杂模板，可将逆转录温度提高到 60°C ~65°C。
 - 反应结束后，85°C 温育 5 min 以终止反应；
 - 将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验。
- 注：cDNA 溶液置于 -20°C 可保存半年；置于 -80°C 可长期储存。