



ELK Biotechnology
For research use only.

EntiLink™ Reverse Transcriptase

M-MLV 逆转录酶

货号	规格	储藏/有效期
EQ002-01	10000U	-20C°/三年
EQ002-02	40000U	-20C°/三年

产品介绍

EntiLink™ Reverse Transcriptase 是基因工程技术重组莫洛尼鼠白血病病毒得到的逆转录酶(MMLV RT)，良好的耐热性，可耐受高达 55°C 的反应温度，高效合成长达 13kb 的全长第一链 cDNA，适合复杂二级结构 RNA 模板逆转录，提供更宽的基因代表性和优异的 qRT-PCR 灵敏度。

试剂组成

组分	EP002-01	EP002-02
EntiLink™ Reverse Transcriptase	10000U	40000U
5×RT Buffer	0.5 mL	1mL
RNase-Free Water	1.5 mL	1.5 mL
说明书	1 份	1 份

产品应用

1. 第一链 cDNA 合成，作为 RT-PCR 和实时 RT-qPCR 的模板
2. 构建全长 cDNA 文库
3. 反义 RNA 合成



ELK Biotechnology

For research use only.

产品特点

1. 无 RNaseH 活性
2. 卓越的特异性
3. 可以高效合成长达 13kb 的全长第一链 cDNA
4. 可耐受高达 55°C 反应温度
5. 适合复杂二级结构 RNA 模板逆转录

活性单位

产品浓度为 200U/ μ l。

一个活性单位 (U) 定义为: 以 Poly (A) 为模板, Oligo (dT) 为引物, 在 37°C 反应 10 分钟可将 1 nmole 的 dTTP 掺入酸不溶物中所需的酶量。

纯度

以考马斯蓝染色 SDS-PAGE 检测纯度大于 90%, 本品无核酸内切酶、外切酶及 RNase 污染。

用户需自备的试剂与物品

1. oligo(dT)12-18 (10 μ M) 或随机引物 (10 μ M) 或 2 p mole 基因特异性引物
2. 可能需要 RNase Inhibitor (起始 RNA 量小于 0.5 μ g 时, 建议加入 RNase Inhibitor)
3. RNase-free 的 1.5ml 离心管
4. 移液器及吸头 (为避免 RNA 酶的污染, 必须选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头)
5. 一次性手套、口罩等防护用品
6. 恒温水浴锅
7. 在无 RNA 酶的实验室操作: 因唾液、皮肤上均含有 RNA 酶, 请在 RNA 的提取的全过程中均穿戴乳胶手套和口罩。



ELK Biotechnology
For research use only.
操作步骤

1. 在无 RNase 的已灭菌微型离心管中加入以下试剂 (冰上) :

试剂	使用量
oligo(dT) ₁₈ (10 uM)	1.0 μL
or Random Primers 9 (10 uM)	or 1.0 μL
or Gene Specific Primers (10 uM)	or 1.0 μL
RNA*	0.5-5 μg
RNase-Free Water	to 15.0μL

*0.5-5μg Total RNA 或 50-500ng mRNA。少于 0.5μg Total RNA (比如病毒 RNA 的逆转录) 使用量时应将 M-MLV Reverse Transcriptase 用量减少至 0.05-0.5 μl, 否则可能会导致后续 PCR 扩增产生非特异性扩增产物。

2. 混合物在 70°C加热 5min 后, 迅速置于冰上冷却。短暂离心后, 加入以下组分:

试剂	使用量
步骤 1 反应液	
5*RT Buffer	4.0 μL
EntiLink™ Reverse Transcriptase	1.0 μL
RNase Inhibitor (可选) *	1.0 μL

*少于 0.5μg Total RNA 使用量时建议加入 1μl RNase Inhibitor。

3. 逆转录程序设置

25°C* ¹	5min
42°C	30min* ²
85°C	5min

*¹ 当使用 pd(N)9 时, 需 25°C, 5min。若使用 oligdT 或 Gene Specific Primers, 此步可省略。

*² 若需要提高 cDNA 产量, 可将逆转录时间延长至 60min。