

M-MuLV反转录酶

组分	#M0121	#M0122
M-MuLV反转录酶 (200 U/μl)	50 μl	50 μl×5
10× M-MuLV RT 缓冲液	1.0 ml	1.0 ml×5

概述: 莫洛尼氏鼠白血病毒 (M-MuLV) 反转录酶是一种RNA介导的DNA聚合酶。该酶能以RNA (合成cDNA时) 或单链DNA为模板⁽¹⁻³⁾, 由引物起始合成一条互补的DNA。M-MuLV反转录酶无3'→5'核酸外切酶活性。

来源: 重组*E. coli*菌株, 含有从M-MuLV中克隆的反转录酶基因。

应用:

1. cDNA第一链的合成。
2. 合成cDNA探针。

存储溶液: 20 mM Tris-HCl (pH 7.5 @ 25°C), 200 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM Dithiothreitol (DTT), 0.01% Nonidet™ P-40 (NP-40) (V/V), 50%甘油(V/V)。

反应条件: 1×M-MuLV反转录酶反应缓冲液, 适量dNTPs (不随酶附赠), 37°C或42°C温育。

1×M-MuLV反转录酶反应缓冲液: 50 mM Tris-HCl (pH 8.3, 25°C), 75 mM KCl, 3mM MgCl₂, 10 mM DTT。

活性定义: 1单位指以poly (rA) 为模板、oligo (dT) 为引物, 在37°C条件下, 10分钟内催化1 nmol的dTTP 掺入形成酸不溶性沉淀物所需要的酶量。

热失活条件: 65°C加热20分钟失活。

质量控制检测:

核酸内切酶活性: 50 μl反应体系中, 500 U本酶与1 μg的pUC19质粒于37°C温育4小时, 电泳条带无明显变化。

核酸外切酶活性: 50 μl反应体系中, 2000 U本酶与1 μg的Hind III消化的λDNA于37°C温育4小时, 电泳条带无明显变化。

RNase活性: 25 μl反应体系中, 1000 U本酶与250 ng的大肠杆菌rRNA于37°C温育2小时, 经琼脂糖电泳检测, 被降解的rRNA小于1%。

纯度: 经SDS-PAGE (考马斯亮蓝染色) 检测其纯度大于90%。

注意事项:

使用时宜存放在冰盒或冰浴上, 使用完毕后立即放置于-20°C保存。

参考文献:

1. Verma, I.M. (1975). *J. Virol.* 15, 843-854.
2. Gerard, G.F. and Grandgenett, D.P. (1975). *J. Virol.* 15, 785-797.
3. Roth, M.J., Tanese, N. and Goff, S.P. (1985). *J. Biol. Chem.* 260, 9326-9335.