



M-MLV 反转录酶

概述

M-MLV 反转录酶是一种依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶，反应需要 DNA 引物和 RNA 模板合成完整的 cDNA 链。该酶是 Moloney 鼠白血病病毒的 pol 基因的产物，由分子量为 71KD 的单个亚单位组成。该酶只具有很弱的 RNase H 活性，可用于较长的 cDNA 链的合成。浓度为 200units/ μ l， -20°C 保存。

- 浓度：200U/ μ l
- 来源：Moloney 鼠白血病病毒
- 应用：以 RNA 为模板合成 cDNA 链、RT-PCR
- 随酶附带缓冲液：

5 \times 反应缓冲液 (0.5ml)：250mM Tris-HCl, 375mM KCl, 15mM MgCl₂, 0.2% Tween 20, pH8.3, 100mM DTT (0.3 ml)

贮存缓冲液：20mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% IGEPAL CA-630, 50% Glycerol, pH 7.6, -20°C 保存。

- 活性定义：以 Poly(A)/oligo(dT)为模板/引物，在 37°C 、10 分钟条件下，使 1nmol 的 dTTP 掺入酸不溶性沉淀物所需要的酶量定义为 1 个活力单位 (U)。
- 质量检定：用 200U 的 M-MLV 反转录酶在 37°C ~ 42°C 孵育 $1\mu\text{g}$ 的 DNA 和 RNA 3 小时，未检测到 DNA 酶和 RNA 酶活性。

操作步骤

cDNA 第一链合成 (20 μ l 反应体系)

1. 在微量 Tube 管 (例如 0.2ml 或 0.5ml PCR 管) 中加入下列成份：

模板总 RNA/Poly(A) ⁺ RNA	1 μ g/5ng-100ng
Oligo(dT) ₁₈ 或随机引物(dN) ₉	10-100pmol
DEPC 处理水	适量

2. 70°C 5 分钟变性 RNA 和引物后，立即冰浴 2 分钟。
3. 加入下列反应液：



5xM-MLV buffer	4 μ l
100mM DTT	2 μ l
dNTP (各 10mM)	1 μ l
RNasin	20U
M-MLV RTase	200U

步骤 1+步骤 3 总反应体积 20 μ l

4. 轻轻弹匀。
5. 用 Oligo(dT)₁₈ 时 42 $^{\circ}$ C 保温 1 小时；用随机引物(dN)₉ 时 37 $^{\circ}$ C 保温 1 小时。
6. 94 $^{\circ}$ C 5 分钟，使 M-MLV 反转录酶变性失活，4 $^{\circ}$ C 或冰上冷却。得到的反应液用于下一步 PCR 反应。

北京赛百盛基因技术有限公司

全国统一热线：400 666 3029

地址：北京市海淀区上地四街 1 号院 2 号楼 202 室 邮编：100085

电话：010-62969345/46, 010-82784296/92 传真：010-82784290

Email: info@sbsbio.com

<http://www.sbsbio.com>