

产品组分

组分名称	组分编号	4,000 U	10,000 U
ABScript III WS Reverse Transcriptase (200,000 U/mL)	RM29505	20 μ L	50 μ L
10X Isothermal Amplification Buffer I	RM20830	1.25 mL	1.25 mL
MgSO ₄ (100 mM)	RM20143	1.25 mL	1.25 mL

产品说明

ABScript III WS Reverse Transcriptase 是经基因工程改造的 *M-MuLV* 反转录酶, 降低了 RNase H 活性, 是一款适配体封闭的温启动反转录酶, 在 40°C 以下能有效封闭逆转录酶活性。该酶可利用 RNA 作为模板, 合成一条互补的 cDNA 链。本产品与 Bst DNA 聚合酶具有良好兼容性, 特别适用于 RT-LAMP (逆转录-环介导等温扩增)。

产品应用

RT-LAMP; RT-qPCR

保存条件

-20°C 保存

活性定义

1 活性单位(U): 指以 Poly(rA)•Oligo d(T)₁₈ 为模板的 50 μ L 反应体系中, 37°C 10 min 内将 1 nmol dTTP 掺入到酸不溶性物质所需的酶量。

注意事项

1. 防止 RNase 污染, 请保持实验区域洁净, 操作时需穿戴干净的手套、口罩。实验所用的离心管、吸头等耗材均需保证 RNase-free。
2. cDNA 产物可立即用于 PCR 反应, 亦可在 -20°C 或 -80°C 保存。

操作说明

1. cDNA 合成（标准流程）

1.1 反应体系

组分	反应体系	最终浓度
10X Isothermal Amplification Buffer I	2 μ L	1X (contains 2 mM MgSO_4)
dNTP Mix (10 mM)	1 μ L	0.5 mM each
Random Primer Mix	2 μ L	50 μ M d(T) ₂₃ VN或60 μ M随机引物
ABScript III WS Reverse Transcriptase (200, 000 U/mL)*	0.25-1 μ L	-
RNase Inhibitor (40 U/ μ L)	0.5 μ L	20 Unit
Template	variable	Up to 1 μ g**
Nuclease-free Water	to 20 μ L	-

* 注：ABScript III WS Reverse Transcriptase (200,000 U/mL) 根据具体实验使用。

** 注：1 pg-1 μ g 总 RNA 模板或 50 pg-100 ng Poly(A)-RNA。

1.2 混匀后，25°C孵育 5 min，55°C孵育 10-15 min。

1.3 热失活，85°C孵育 5 min。

2. RT-LAMP（标准流程）

2.1 反应体系

组分	反应体系	最终浓度
10X Isothermal Amplification Buffer I	2.5 μ L	1X (contains 2 mM MgSO_4)
MgSO_4 (100 mM)	1.5 μ L	6 mM
dNTP Mix (10 mM)	3.5 μ L	1.4 mM each
Primers (25X)	1 μ L	1.6 μ M FIP/BIP, 0.2 μ M F3/B3, 0.4 μ M Loop F/B
ABScript III WS Reverse Transcriptase (200,000 U/mL)*	X μ L	-
Ruby Bst DNA Polymerase (8,000 U/mL)	1 μ L	8 U
Template	variable	-
Nuclease-free Water	to 25 μ L	-

* 注：ABScript III WS Reverse Transcriptase (200,000 U/mL) 根据具体实验使用。

2.2 混匀后，直接进行 65°C 孵育 30 min。