

描述: HaiGene Golden MLV Reverse Transcriptase 反转录酶是在鼠源病毒反转录酶基础上进行定点突变改良而得。该酶去除了 RNase H 活性中，从而避免反转录过程中降解 RNA。同时经过突变文库筛选，使得其热稳定性更强，可耐受 55°C 高温反应（最佳活性温度为 50°C）。相比于低温条件下反转录反应，采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构，从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度和产量，从而提高后续检测的灵敏度。

组分

名称	20,000U
Golden MLV Reverse Transcriptase (200 U/μl)	100 μl
10×RT Buffer	0.4 ml

单位定义: 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，定义为一个活性单位。

酶储存液：20mM Tris-HCl, pH7.5, 150mM NaCl, 0.1% Tween20, 2mM DTT, 50%甘油。

储存: -20°C 可保存 3 年。

操作方法

1. 按以下组分配制反应体系

Golden MLV Reverse Transcriptase	1 μl
10×RT Buffer	2 μl
dNTP Mixture (10 mM each)	1 μl
Total RNA or Poly(A) RNA	0.1-2 μg
20×Oligo dT(25)&Random Primer *	1 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl)	0.2 μl
RNase Free H ₂ O	Up to 20 μl

*注: Oligo dT(25) 使用浓度为 20~50 μM，如使用 Random9 随机引物可使用 125 μM，基因特异性引物可使用 5 μM。

2. 在 PCR 仪上按下列条件进行反转录反应

30°C	5 min
*37-50°C	15~30 min
85°C	5 min

*推荐的反转录温度设置为 50°C，无论是高 GC 或长片段模板，均可获得综合性的 cDNA 产量。

3. 反转录所得的 cDNA 可直接用于 PCR 反应或储存于 -20°C。

4. 其它注意事项: 该酶可与 Taq DNA 聚合酶组合，用于 One-Step RT-PCR，推荐的 RT 温度为 50°C，RT 时间为 5min，酶的参考用量为：终反应浓度 0.5-2U/ul。