

酶 好逆转录

1分钟 就搞定

HiFi II M-MLV (H-) Reverse Transcriptase

HiFi II M-MLV (H-)是经过突变的M-MLV基因利用大肠杆菌工程菌进行重组与表达的逆转录酶，该酶能够催化以RNA或DNA/RNA杂交链为模板的互补DNA聚合反应。经过突变使RNase H活性缺失，减少了逆转录反应中RNA的降解，更容易获得全长的cDNA。55℃合成第一条链cDNA，提供更高的特异性，稳定性更强，可以合成长达12 kb的cDNA，cDNA产量高。适用于第一链cDNA的合成、RT-PCR、RT-qPCR以及全长cDNA文库构建等。



产品特点

热稳定性强

可在55°C进行第一链合成

快速逆转录反应

孵育时间可缩短至1min

灵敏度高

检测限可低至单拷贝

杂质耐受度高

对于常见杂质具有超强的耐受度

兼容冻干和液体体系

无核酸酶污染

热稳定性强

实验设计1：以梯度稀释的人血液RNA为模板，将HiFi II M-MLV (H-) Reverse Transcriptase（以下简称HiFi II M-MLV (H-)）分别放置在不同温区4天之后进行逆转录和qPCR实验，检测数据如下：

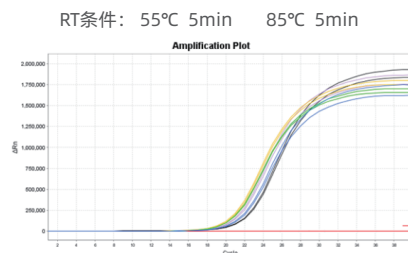
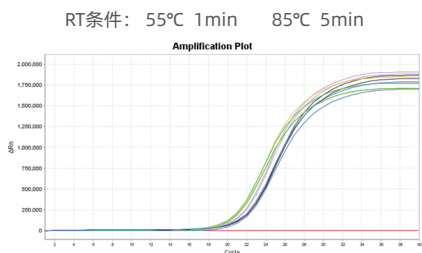
Ct/RNA浓度	100ng/μL	10ng/μL	1ng/μL	0.1ng/μL	0.01ng/μL	水
对照品 (-20°C)	21.76	25.12	28.43	31.63	34.25	/
37°C温区	21.49	25.07	28.39	31.59	34.32	/
4°C温区	21.90	25.06	28.54	31.66	34.38	/

表1：不同温度放置后逆转录检测结果

实验数据表明：康为世纪HiFi II M-MLV (H-)在不同温度条件下具有很强的热稳定性。

快速逆转录反应

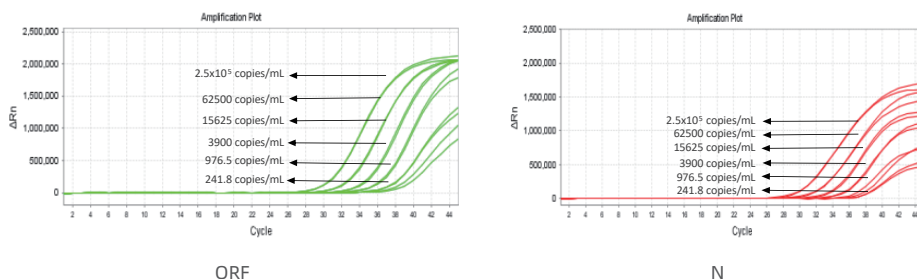
实验设计2：以人293T细胞RNA为模板，扩增Actin基因，反应体系中使用康为世纪HiFi II M-MLV (H-)进行一步法RT-qPCR反应，在相同条件下，使用不同的孵育时间对比扩增效果。



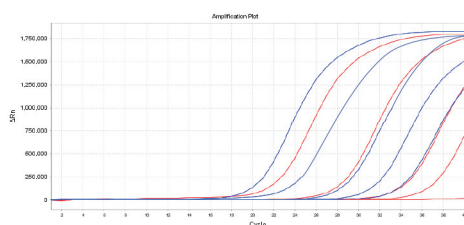
实验数据表明：康为世纪HiFi II M-MLV (H-)可进行快速逆转录反应，且扩增性能稳定，孵育时间可缩短至1min。

检测灵敏度高

实验设计3-1: 分别以中国计量科学院新冠计量标准品RNA为模板, 进行4倍比梯度稀释, 使用康为世纪HiFi II M-MLV (H-) 进行一步法RT-qPCR荧光定量反应, 分别检测ORF1ab和N基因表达情况, 检测数据如下:



实验设计3-2: 将人293T细胞RNA梯度稀释为100ng, 10ng, 1ng, 0.1ng, 0.01ng, 同时用康为世纪HiFi II M-MLV (H-)和A公司逆转录产品进行反转录后, 荧光定量检测内参基因, 检测结果如下:

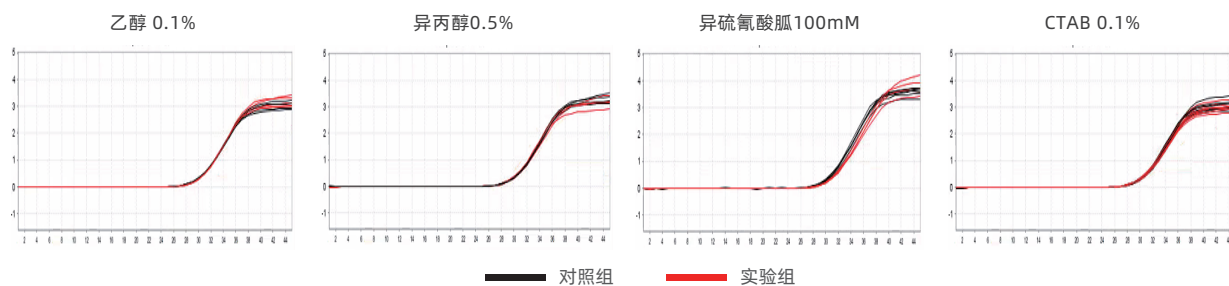


	100ng	10ng	1ng	0.1ng	0.01ng
HiFi II M-MLV (H-) (蓝色)	20.29	23.97	28.7	31.55	34.09
A公司产品 (红色)	22.24	28.2	34.28	36.91	Undete

实验数据表明: 康为世纪HiFi II M-MLV (H-)检测灵敏度高, 检测限可低至单拷贝。

杂质耐受度高

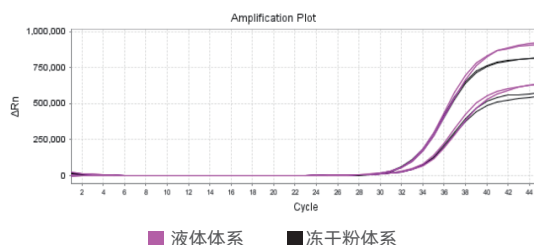
实验设计4: 以人293T RNA (0.13 ng/μL) 为基础, 分别与不同的常见PCR反应抑制物混合后作为扩增模板, 反应体系中使用康为世纪HiFi II M-MLV (H-)进行一步法RT-qPCR反应, 检测Actin基因表达情况。



实验数据表明: 康为世纪HiFi II M-MLV (H-)杂质耐受度很高, 对常见的抑制物具有极强的耐受性。

兼容冻干和液体体系

实验设计5：以中国计量科学院新冠计量标准品RNA为模板，反应体系中使用康为世纪HiFi II M-MLV (H-)进行一步法RT-qPCR反应，在相同条件下使用液体试剂与冻干试剂进行扩增对比。

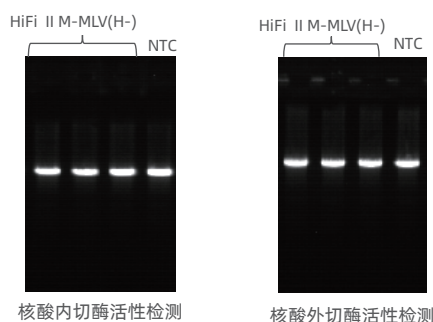


实验数据表明：康为世纪HiFi II M-MLV (H-)逆转录性能稳定，兼容液体体系和冻干体系。

无核酸酶污染

实验设计5：

- (1) 核酸内切酶活性检测：取100 ng的长度2000bp线性DNA片段，加入400U HiFi II M-MLV (H-)混匀后在37℃ 孵育4h，凝胶电泳检测DNA条带变化。
- (2) 核酸外切酶活性检测：取500 ng的Human Genome DNA，加入400U HiFi II M-MLV (H-)混匀后在37℃ 孵育16h，凝胶电泳检测DNA条带变化。



实验数据表明：DNA产物条带无变化，康为世纪HiFi II M-MLV (H-)无核酸内切酶活性和核酸外切酶活性。

产品信息

目录号	产品名称	规格
CW0743S	HiFi II M-MLV (H-) Reverse Transcriptase	10000 U