

Dyne Reverse Transcriptase

Cat. No.	용량	농도
DYRT1020	10,000 units	200 units/μl
DYRT1022	20,000 units	200 units/μl
DYRT1024	50,000 units	200 units/μl
DYRT1026	50,000 units	1,000 units/μl

◆ 제품구성

	Temp.(°C)
Dyne Reverse Transcriptase	-20
Dyne 10X RT Buffer	-20
dNTP Mixture (2 mM each)	-20
Sterile water (RNase free)	-20

◆ 품질관리

- 순도: >99% on SDS-PAGE
- Endonuclease-free
- Exonuclease-free
- RNase-free
- Inhibitor-free
- Satisfactory yield and length of cDNA products

◆ 제품특징

- 분자량: 71 kDa
- 반응온도: 37°C - 60°C

- 긴 cDNA 합성가능
- 우수한 민감도

◆ 응용분야

- 1st-strand cDNA synthesis
- Array labeling
- cDNA library construction
- 3' and 5' RACE, RT-PCR
- Primer extension

◆ 제품설명

- Dyne Reverse Transcriptase는 60°C의 높은 온도에서도 cDNA 합성이 가능한 내열성이 높은 M-MLV reverse transcriptase를 기반으로 개발된 제품이다. 복잡한 2차구조의 주형 RNA에서도 20 kb 이상의 긴 cDNA 합성이 가능하다.

◆ Unit정의

- 1 unit은 37°C에서 10분간 0.4 mM poly(rA)-oligo(dT)를 기질(substrate)로 사용하여 1 nmol dTTP를 불용성 산성물질(acid-insoluble materials)로 변환 하기위해 필요한 효소의 양이다.

◆ Storage buffer

- 20 mM Tris-Cl (pH7.5), 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.01% NP40, 50% glycerol

◆ Dyne 10X RT buffer

- 500 mM Tris-HCl (pH 8.3), 30 mM MgCl₂, 100 mM DTT,

750 mM KCl

◆ 표준반응조건

→아래의 RNA종 하나를 준비한다.

- Total RNA: 1 ng-5 μg
- Messenger RNA (mRNA): 1 ng-250 ng
- Specific RNA: 0.01 pg-0.5 μg

→아래의 primer 중 하나를 준비한다.

- Oligo (dT)₁₈: 50-100 μM
- Random hexamer: 50-100 μM
- Specific primer: 15-20 pmole

Dyne 10X RT Buffer	2 μl
Dyne Reverse Transcriptase (200 units/μl)	1 μl
dNTP mixture (2 mM each)	2 μl
Template RNA	X μl
Primer	1 μl
RNase Inhibitor (40 units/μl, Cat.# DYO1010)	0.5 μl
Sterlie water (RNase free)	up to 20 μl

→추가적인 annealing step이 필수적이다.

- oligo(dT)₁₈ 사용시에는 42°C 에서 5분동안 반응 시킨다.
- Random hexamer 를 사용할 경우에는 25°C 에서 10 분동안 반응 시킨다

→42°C-60°C에서 60분동안 반응 시킨다.

→반응을 불활성화 시키기 위해서 95°C에서 5분동안 반응 시킨다.