

K1601



Kit FLYE-Ultra® M-MLV
Transcriptasa reversa
200 U/ μ l 10.000 U

USO EN INVESTIGACION
IN VITRO

Kit FLYE-Ultra® M-MLV RT

Presentación

- 1 vial de FLYE-Ultra® M-MLV Transcriptasa reversa 10.000 U (200 U/μl).
50 reacciones (E1602)
- 1 vial con 250 μl de Buffer 5X First Strand (B0230)

Descripción

Esta enzima recombinante, de origen bacteriano, es una variante de la M-MLV RT, modificada genéticamente para obtener una mayor estabilidad a la temperatura, mayor procesividad y especificidad. Además, es RNasaH- por lo que no degrada el ARN molde generándose mayor cantidad de ADNc durante la reacción de transcripción reversa.

El Buffer 5X first strand, se encuentra optimizado, listo para usar y **contiene magnesio**.

Conservación: - 20°C

Protocolo

Síntesis de la primera hebra de ADNc empleando M-MLV RT

Partir de una reacción de 20 μl totales conteniendo 1 ng - 5 μg de ARN total o 1-500 ng de ARNm

1. Agregar los siguientes componentes en un tubo estéril en hielo:

| | | |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| ARN Templado | <ul style="list-style-type: none">• ARNm(poli-A) o• ARN total | 1 a 500 ng 1 a 5 µg |
| Primer | <ul style="list-style-type: none">• Oligo (dT) 15 primer (50 µM) o• Hexámeros random primer (50 µM) o• 2 pmoles primer específico | 1 µl 1 µl 1 µl |
| Agua DEPC | c.s.p 13.4 µl | |
| Volumen Total | 13.4 µl | |

2. Mezclar suavemente, dar un spin e incubar a 70°C por 5 min.

Luego enfriar en hielo, dar un spin y colocar nuevamente en hielo.

3. Agregar a la mezcla los siguientes componentes en el orden indicado:

| | |
|-----------------------------------------------|--------|
| Buffer 5X First-Strand | 4 µl |
| dNTPs (10mM c/u) | 1 µl |
| Inhibidor RNAsa A (40 U/µl) | 0.6 µl |
| M-MLV Transcriptasa Reversa (200 U/µl) | 1 µl |
| Volumen total de reacción | 20 µl |

4. Mezclar suavemente y dar un spin.

5. Incubar la reacción a 42°C si se utilizan Oligo (dT) o primers específicos. En caso de emplear hexámeros random primer realizar la incubación a 37°C. Tiempo de incubación: 60 min.

6. Finalizar la reacción calentando a 70°C por 5 min.

El ADN copia obtenido podrá ser ahora empleado como templado en una reacción de PCR, para dicha reacción se podrán utilizar entre 1 a 3 µl de la reacción de la transcripción reversa.

Conservar a -20°C.

Temperatura de transporte: 4 a 15°C hasta 72 horas
Una vez recibido conservar a -20°C

Inbio Highway S.A.

Serrano 1414 (7000) Tandil | Prov Bs. As. | Argentina
Tel. +54 249 4420193

contacto@inbiohw.com.ar
www.inbiohw.com.ar

Directora técnica: Dra. Yanil R. Parma. Bioquímica
Habilitado por ANMAT

 **PRODUCIDO EN ARGENTINA** 

ES UN PRODUCTO DE

