K1601



Kit FLYE-Ultra® M-MLV Transcriptasa reversa 200 U/μl 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/µI). 50 reacciones (E1602)
- 1 vial con 200 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  $\mu$ l totales conteniendo 1 ng - 5  $\mu$ g de ARN total o 1-500 ng de ARN m

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

ARN Templado	ARNm(poli-A) o ARN total	1 a 500 ng 1 a 5 μg
Primer	Oligo (dT)15 primer (50μM) ο  Hexámeros random primer (50 μM) ο  pmoles primer específico	1 μl 1 μl 1 μl
Agua DEPC	c.s.p 13.4 μl	
Volumen Total	13.4 μΙ	

#### 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 μΙ
dNTPs (10mM c/u)	1 μΙ
Inhibidor RNAsa A (40U/μl)	0.6 μΙ
M-MLV Transcriptasa Reversa (200 U/μl)	1 μΙ
Volumen total de reacción	20 µl

- 4. Mezclar suavemente y dar un spin.
- 5. Incubar la reacción a 60°C si se utilizan primers específicos, a 42°C si se utilizan Oligo (dT) o 37°C para hexámeros random primer durante 60 min.
- 6. Finalizar la reacción calentando a 95°C por 10 min.

El producto de la reacción de la Transcriptasa reversa, puede ser empleado inmediatamente en la síntesis de una segunda hebra de ADNc o conservar a -20°C por 1 semana. Para períodos más largos, se recomienda conservar a -70°C.

## CONSERVAR A - 20°C

INBIO HIGHWAY S.A.

Serrano 1414 - (7000) - Tandil - Argentina

Dir. Téc. Dra. Yanil R. Parma

Tel: +54 (249) 442 0193

Habilitado por ANMAT.

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





