

**Dyne Reverse Transcriptase ver.2**

Cat. No.	용량	농도
DYRT1090	10,000 units	200 unit/μl
DYRT1092	50,000 units	200 unit/μl

**◆ 제품구성**

	Vol. (μl)
Dyne Reverse Transcriptase ver.2	50
5X 1st strand buffer	1,000
dNTP Mixture (10 mM each)	100
0.1 M DTT	500
Sterile water ( <i>RNase free</i> )	1,000

**◆ 보관온도**

- 20°C

**◆ 품질관리**

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

**◆ 제품특징**

- Thermostable and RNase H variant of M-MLV RTase
- cDNA 합성온도: 37~42°C
- 최적 활성온도: 42°C
- 최대 12kb의 cDNA 합성 가능

**◆ 응용분야**

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

**◆ 제품설명**

- Dyne Reverse Transcriptase ver.2는 M-MLV Reverse Transcriptase의 개량형 제품이다. 이 제품은 높은 열 안정성 (~42°C)과 낮은 RNase H 활성을 보이며, 최대 12kb까지 cDNA를 합성할 수 있다. 해당 제품은 Primer (oligo dT, random hexamer) 별도 구매가 필요하다.

**◆ 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 변환하기 위해 필요한 효소의 양이다.

**◆ 보관용액**

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

**◆ 5X 1st strand 용액**

- 250 mM Tris-Cl (pH 8.3), 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>

**◆ 표준반응조건**

- 주형 RNA 준비 (아래 표의 RNA 중 한 시료)

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

- Primer 준비 (아래 표의 primer 중 한 시료)

Oligo (dT) <sub>18</sub>	50~100 μM
Random hexamer	50~100 μM
Specific primer	15~20 pmole

5X 1st-Strand Buffer	4 μl
Dyne Reverse Transcriptase ver.2 (200 units/μl)	1 μl
dNTP mixture (2 mM each)	1 μl
0.1 M DTT	2 μl
Template RNA	X μl
Primer	1 μl
RNase Inhibitor (40 units/μl, Cat.# DY01010)	0.5 μl
Sterile water ( <i>RNase free</i> )	up to 20 μl

- 추가적인 annealing step이 필수적이다.
  - oligo(dT)<sub>18</sub> 사용시에는 42°C 에서 5분동안 반응시킨다.
  - Random hexamer 를 사용할 경우에는 25°C 에서 10 분동안 반응 시킨다.
- 42~60°C에서 60분 동안 반응시킨다.
- 반응 종료를 위해 70°C에서 15분 동안 반응시킨다.