Reverse Transcriptase

#MRT, MMuLV Reverse Transcriptase **200 U/µl** **10,000 U**
(*Suffisant pour 250 réactions RT de 20µl)*

La #MRT est une reverse transcriptase utilisée pour la synthèse d'ADN complémentaire à partir d'ARN.
Elle est purifiée à partir de cellules *E. coli* exprimant un clone recombinant de la MMuLV RT. Elle rencontre différents standards de qualité préétablis: Pureté par SDS-PAGE, absence d'ARN et d'ADN contaminant, absence de RNase et absence d'endonucléase ainsi que la capacité de synthèse d'ADN complémentaire.

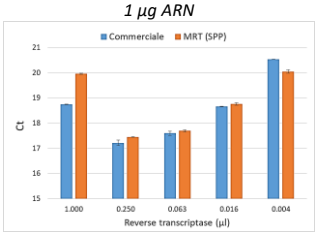
Activité

Détermination de l'activité par comparaison avec une RT commerciale.

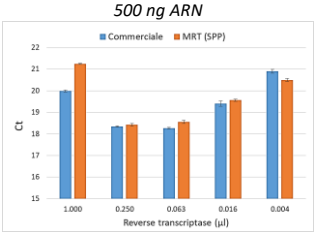
Réaction: *20 µl de réaction en suivant le protocole établi et en utilisant le Random Primer mix.*
Substrat: *ARN total provenant de cellules humaines. 1000, 500, 200 ng.*
Enzyme: *1 µl et dilutions sériées ¼ de MMuLV RT (Commerciale et Plateforme de purification).*
Conditions de réaction: *5 min à 25°C, 60 min à 42°C et 20 min à 65°C.*

Détermination de l'activité: qPCR pour ACTB sur une dilution 1/10 de la réaction RT en utilisant la HqPCR polymérase.

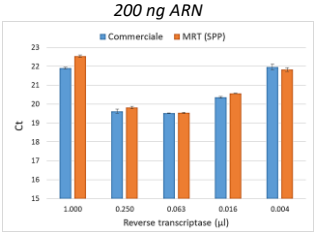
1 µg ARN



500 ng ARN



200 ng ARN



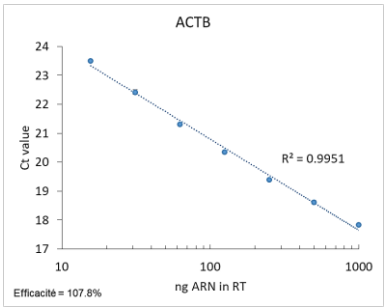
!! Effet inhibiteur à forte concentration d'enzyme !!

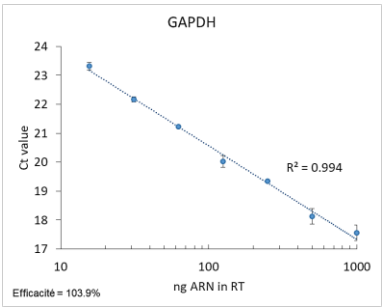
Efficacité

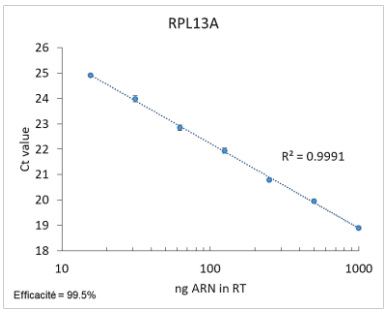
Détermination de l'efficacité de la MMuLV RT (#MTR).

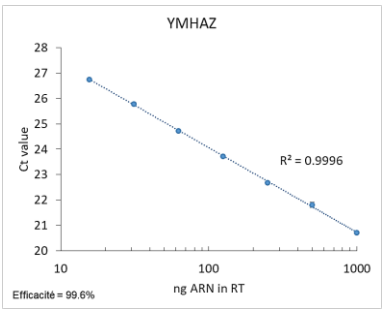
Réaction: *20 µl de réaction en suivant le protocole établi et en utilisant le Random Primer mix.*
Substrat: *ARN total provenant de cellules humaines. 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6 ng.*
Enzyme: *0.2 µl de MMuLV RT (#MRT, Plateforme de purification).*
Conditions de réaction: *5 min à 25°C, 60 min à 42°C et 20 min à 65°C.*

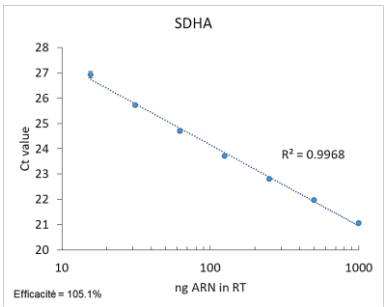
Détermination de l'efficacité: qPCR sur une dilution 1/10 de la réaction RT en utilisant la HqPCR polymérase (Plateforme de purification).

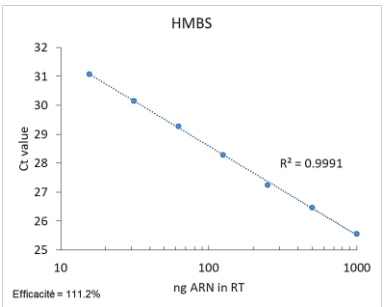












Efficacité: 104.5 ± 4.6% pour les 6 gènes analysés.

Reverse Transcriptase

Réaction de transcription inverse (#MRT)

1. Sur glace, mélanger les composantes suivantes et incuber à 42°C pour 1 heure. Si l'on utilise le Random Primer mix, incuber à 25°C pour 5 minutes avant l'incubation à 42°C.

COMPOSANTE	VOLUME
ARN total	Jusqu'à 1 µg
$d(T)_XVN$ (50µM) ou Random Primer Mix (60µM)§	2 µl
10X MRT-Buffer	2 µl
MMuLV RT (#MRT, 200U/µl)	0.2 µl
10mM dNTP	1 µl
RNase Inhibitor 40U (#RI-L, 40U/µl)	0.2 µl
H_2O	Compléter à 20 µl

§ Random Primer Mix (60µM): [35µM Hexamers, 25µM $d(T)_XVN$, 1mM dNTP], conserver à -20°C

2. Inactiver l'enzyme à 65°C, 20 minutes.
3. Pour des réactions PCR subséquentes (ou qPCR), diluer le produit de RT 1/10 avant de procéder au PCR (exemple: 2µl de la réaction RT 1/10 pour une réaction de PCR de 20µl).

.: L'utilisation de cette enzyme dans d'autres applications et conditions nécessite une optimisation.

Autres produits et services à la plateforme.

❖ Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	*DESCRIPTION*
#RI-L	*RNase inhibitor, 5000U*
#MRT	*MMuLV RT, 10000U*
#Taq-250	*Taq DNA polymérase, 1250U*
#HqPCR-200	*HqPCR polymérase, 1000U*
#HFPCR	*HFPCR polymérase, 500U*
#Pfu-PLUS	*Pfu-PLUS DNA polymérase 100U*
#S-mix	*Supermix qPCR 2X, 5ml*
#T4Lig	*T4 DNA ligase, 20000U*
… et plus!	

• Rencontre les contrôles de qualité spécifiques au produit • Tests fonctionnels effectués • Conseils sur l'utilisation du produit • Ne déboursez que les frais de production • Satisfaction et activité garanties •

❖ Purification personnalisée de protéines, SPR et +

Contactez la plateforme pour plus de détails.

Plateforme de purification des protéines
Faculté de médecine et des sciences de la santé
Département de Microbiologie et Infectiologie
Université de Sherbrooke
3201, rue Jean Mignault, Sherbrooke (Québec) J1E 4K8
Local Z8-1011, Tél 819-821-8000 #72156
SPP_FMSS@USherbrooke.ca