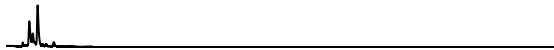


Reverse Transcriptase

#MRT, MMuLV Reverse Transcriptase 10,000 U35\$
(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.

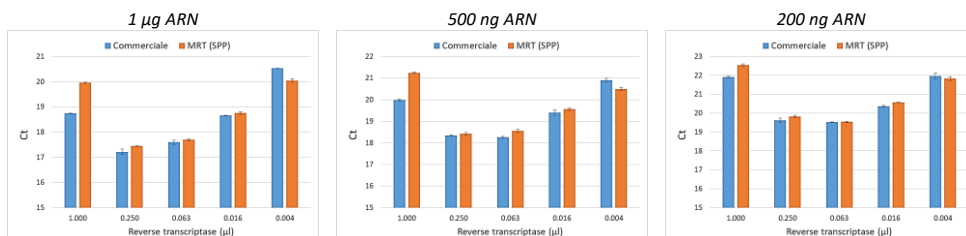


Activité

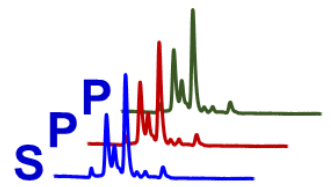
Détermination de l'activité par comparaison avec une RT commerciale.

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 SPP).
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 (SPP).



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

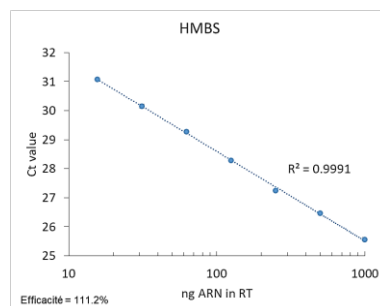
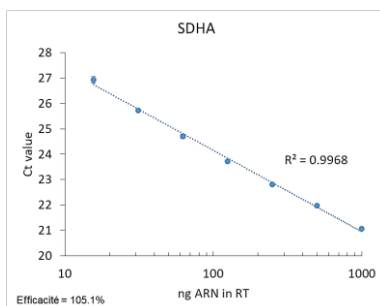
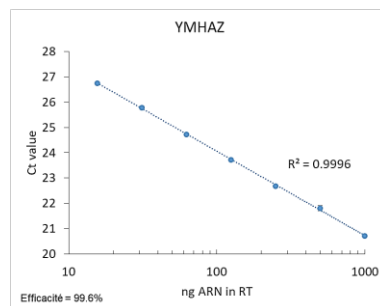
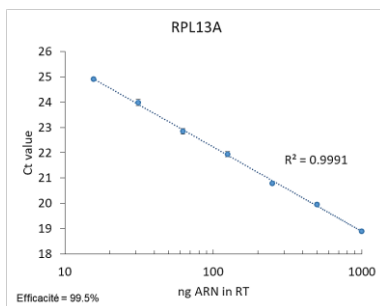
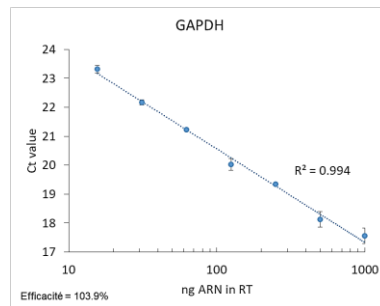
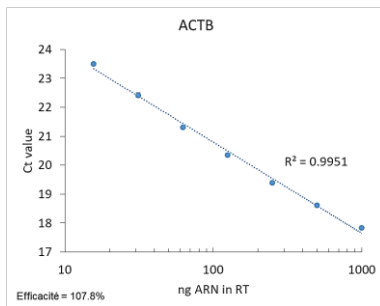


Efficacité

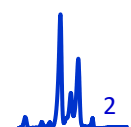
Détermination de l'efficacité de la MMuLV RT (#MTR).

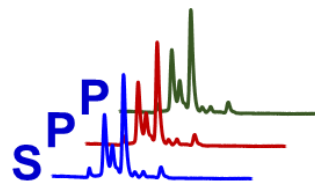
Réaction: 20 µl de réaction en suivant le protocole établi et en utilisant le Random Primer mix.
 Substrat: ARN total provenant de cellules humaines. 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6 ng.
 Enzyme: 0.2 µl de MMuLV RT (#MRT, SPP).
 Conditions de réaction: 5 min à 25°C, 60 min à 42°C et 20 min à 65°C.

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



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





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) _x VN (50µM) ou Random Primer Mix (60µM) [§]	2 µl
10X MRT-Buffer	2 µl
MMuLV RT (200U/µl) (SPP, #MRT)	0.2 µl
10mM dNTP	1 µl
RNase Inhibitor 40U/µl (SPP, #RI-L)	0.2 µl
H ₂ O	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), utiliser 1/10^e de volume de réaction de PCR d'une dilution 1/10 de la réaction RT obtenue (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 du S.P.P.

Inventaire d'enzymes de biologie moléculaire

ITEM	DESCRIPTION	FRAIS
#RI-L	RNase inhibitor, 5000U	70 \$
#MRT	MMuLV RT, 10000U	35 \$
#Taq-250	Taq DNA polymérase, 1250U	55 \$
#HqPCR-200	HqPCR polymérase, 1000U	90 \$
#HFPCR	HFPCR polymérase, 500U	60 \$
#Pfu-PLUS	Pfu-PLUS DNA polymérase 100U	55 \$
#S-mix	Supermix qPCR 2X, 5ml	50 \$
#T4Lig	T4 DNA ligase, 20000U	30 \$
... 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 le S.P.P. pour plus de détails.



Bruno Lemieux Ph.D.

Bruno.Lemieux@USherbrooke.ca

Local Z8-1011, Poste 72156

Site Web: <https://www.usherbrooke.ca/medecine/recherche/notre-caractere-distinctif/infrastructure-et-plateformes-de-la-recherche/plateforme-de-purification-des-protéines>