

取扱説明書

スクリプテース

FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis

cDNA 合成キット

Cat.No.	概要	包装単位
NE-LS63	FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis	反応100回分

【製品説明】

RNAをテンプレートとしてDNAを合成する逆転写反応の応用は、近年の分子生物学において、きわめて重要となっております。これを可能とするDNAポリメラーゼは、逆転写酵素と呼ばれています。mRNAを逆転写して合成される相補的DNA (cDNA) は、PCRによる目的遺伝子の増幅やqPCRによる発現定量に応用されます。MuLV逆転写酵素は3' → 5' エキソヌクレアーゼ活性を欠失しており、逆転写反応に最適な酵素として急速に普及しています。FastGene™ Scriptase IIは、MuLV逆転写酵素を改良し、更にRNase H活性を低く抑制した逆転写酵素です。

【保存条件】

-20℃

【キット内容】(反応100回分)

- FastGene™ Scriptase II (200 U/μL)
- 5x FastGene™ 逆転写酵素バッファー
- DTT (0.1 M)
- dNTP混合液 (各2 mM)
- 滅菌水 (RNaseフリー)
- RNaseインヒビター (40 U/μL)
- オリゴdTプライマー (80 μM)
- ランダムヘキサマー (100 μM)

【品質管理】

- 純度：> 99% (SDS-PAGE法)
- Endonucleaseフリー
- Exonucleaseフリー
- RNaseフリー
- インヒビターフリー
- cDNA収量

【実験手順】

【テンプレートRNAの濃度】

- 全RNA：1 ng ~ 5 μg
- メッセンジャー RNA (mRNA)：1 ng ~ 0.25 μg
- 特異的RNA：0.01 pg ~ 0.5 μg

1. FastGene™ Scriptase Basic・FastGene™ Scriptase IIの合計4枚推奨濃度のRNAテンプレートを、オリゴdTプライマー (80 μM) 1 μL、又はランダムヘキサマー (100 μM) 1 μL、又は両方のプライマーと混合する。もしくは、特異的プライマー (任意の濃度) 1 μLと混合する。
2. dNTPを2 μL加える。
3. (滅菌) 蒸留水を加えて、12.5 μLにする。
4. 混合液を65℃になるまで5分間加熱し、その後すぐに氷上で冷やす。
5. 下記の試薬を加える：

5x FastGene™ Scriptase II バッファー	4 μL
DTT (0.1 M)	2 μL
RNaseインヒビター	0.5 μL

6. 42℃で2分間インキュベーションする。
注記：ランダムヘキサマーを使用する場合は、アニーリング工程を25℃で2分間のインキュベーションに変更する。
7. RNA混合液を氷上で保存し、FastGene™ Scriptase IIを1 μL加える。
8. 42℃で50分間インキュベーションする。
注記：FastGene™ Scriptase IIは必要に応じて、42 ~ 50℃の全域にわたって使用できる。
9. 70℃で15分間インキュベーションして、酵素を完全に不活性化する。