

取扱説明書

スクリプテース

FastGene™ Scriptase II MasterMix

5x ReadyMix

Cat.No.	概要	包装単位
NE-LS64	FastGene™ Scriptase II 5x ReadyMix	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 5x ReadyMix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が採用されています。

Master Mix タイプ

本製品は、ダウンストリームアプリケーションとして、遺伝子の発現定量を目的とするqRT-PCR (リアルタイムPCR) に特化した5x Master Mixタイプです。逆転写反応に必要な成分 (FastGene™ Scriptase II, 5x FastGene™ Scriptase II buffer, dNTP Mixture, RNase Inhibitor, Random Hexamer) を含んだプレミックス試薬であり、テンプレートRNAと水を添加するだけで、迅速に逆転写反応を実施できます。qRT-PCRによる遺伝子の発現定量では、多検体を処理しなければならないケースが多いため、MasterMixタイプを使用することにより、逆転写反応液の調製において、分注操作の手間を減らすことができます。また、ランダムプライマーを含むため、RNAの立体構造を解くステップ (65℃・5 min) を省略する場合においても、立体構造の下流にあるターゲット領域が効率的に逆転写されることが期待できます。これらにより、逆転写反応における操作の簡略化と操作時間の短縮化を図ることができます。

【注】

本製品は、ダウンストリームアプリケーションとして、qRT-PCR (リアルタイムqPCR) 用として開発されています。mRNAのポリAテール側から完全長cDNAをクローニングするような場合には、oligo dT プライマーを含むFastGene™ Scriptase II cDNA Synthesisキットをご利用ください。

【保存条件】

-20℃

【キット内容】(反応100回分)

- FastGene™ Scriptase II 5x Ready Mix (含有成分)
 - FastGene™ Scriptase II 逆転写酵素
 - FastGene™ Scriptase II 反応バッファー
 - dNTPミックス
 - RNaseインヒビター
 - ランダムヘキサマー
 - 補助タンパク質

【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】

- 下記の構成でReadyMixをテンプレートRNAと混合する：

5x FastGene™ Scriptase II ReadyMix (LS64)	4 μL
高品質RNAテンプレート*	x μL
滅菌水	最大 20 μL

* テンプレート RNA の最大濃度は 2.5 μg

- 25℃で10分間インキュベーションする。
- 42℃で60分間インキュベーションする*。
*注記：推奨インキュベーション時間は、産物の存在量とサイズに応じて、5分間まで短縮することができる。「Technical Note」では、低めの温度 (最短で5分間) でのパフォーマンスについて説明しています。当社のウェブサイト (<http://www.n-genetics.com>) からダウンロードしてください。
- 85℃で5分間インキュベーションして、FastGene™ Scriptase II (逆転写酵素) を不活性化する。
- cDNAを-20℃で保存する、又は、下流アプリケーションでcDNAを使用する。
注記：qPCR反応容積の最大10%が、未希釈の合成cDNAによるものであることがある。

Genetics 日本ジェネティクス株式会社 <http://www.n-genetics.com> ☒ info@genetics-n.co.jp

本社 〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階
Tel. 03 (3813) 0961 Fax. 03 (3813) 0962

西日本営業所 〒600-8491 京都府京都市下京区室町通四条南入鶏鉾町493番地 ムーンバットビル6階
Tel. 075 (353) 8855 Fax. 075 (353) 8858