



EliZyme™ Reverse Transcriptase

Účel použití:

Produkt je určen pouze pro vědecké účely, nikoliv pro diagnostické procedury.

Skladování:

Skladujte při -20 °C a vyhněte se dlouhotrvajícímu vystavování světelnému záření. Při dodržení těchto skladovacích podmínek si kity plně udrží svou aktivitu, dokud neuběhne expirační doba uvedená na kitu. Nevystavujte zásobní roztok častým změnám teploty a omezte manipulaci s ním při pokojové teplotě na dobu nezbytně nutnou.

Popis produktu

EliZyme™ Reverzní transkriptáza je výkonný nástroj pro výzkumné pracovníky v oblasti molekulární biologie a biochemie. Je spolehlivým a tepelně odolným enzymem, navrženým pro zvýšení rychlosti a účinnosti syntézy cDNA při zajištění přesného zastoupení transkriptu.

EliZyme™ Reverzní transkriptáza je odvozena od viru Moloney Murine Leukemia Virus (M-MLV) a byla modifikována pro zvýšení své aktivity a termostability. Na rozdíl od mnoha jiných reverzních transkriptáz není EliZyme™ Reverzní transkriptáza inhibována ribozomální ani transferovou RNA, což umožňuje syntézu cDNA z celkové RNA. Přítomnost pokročilého inhibitoru RNázy zabraňuje degradaci RNA kontaminující RNázou. Enzym lze použít k syntéze cDNA při teplotách mezi 45 °C a 55 °C a poskytuje tak vyšší specifitu a účinnost transkripce GC bohatých RNA sekvencí s vysokou sekundární strukturou. EliZyme™ Reverzní transkriptáza je vhodná pro celou řadu aplikací, včetně PCR, analýzy genové exprese, klonování, přípravy knihoven, sekvenování nové generace a dalších.

Enzym je dodáván bez oligonukleotidů, což uživatelům poskytuje flexibilitu při definování vlastní strategie primingu v závislosti na typu potřebné analýzy.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ Reverse Transcriptase	EZ8005	1×50 µl (200 U/µl) + 1×200 µl buffer	50 rxns
	EZ8020	4×50 µl (200 U/µl) + 4×200 µl buffer	200 rxns

	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ Reverse Transcriptase	5× buffer	15 mM MgCl ₂ , 5 mM dNTPs

Doplňkový MgCl₂ nebo zesilovače nejsou nutné. Složení pufru bylo optimalizováno tak, aby pro následné aplikace byla generována nezkreslená cDNA s vysokým výtěžkem.

Primery

V následující tabulce jsou uvedeny doporučené koncentrace primerů. Pro nespecifickou amplifikaci se doporučuje použít jak náhodné hexamery, tak i oligo (dT)₁₈.



Typ oligonukleotidu	Koncentrace reakce	10x zásobní koncentrace
Specifické primery	1 pM	10 pM
Náhodné hexamery	2–5 µM	20–50 µM
Oligo (dT) ₁₈	1 µM	10 µM

Složení reakční směsi

Před použitím musí být 5x EliZyme™ RT Buffer rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	20 µl reakce	Finální konc.
5x EliZyme™ RT Buffer	4 µl	1×
Reverse transcriptase (200 U/µl)	1 µl	
Templátová RNA/oligo (dT) purifikovaná mRNA	4.0 pg–0.4 µg*	variabilní
10x Primer mix	2 µl**	1×
PCR voda	Doplnit do 20 µl	

*Použijte 4,0 pg až 0,4 µg celkové RNA nebo oligo(dT) purifikované mRNA. Pro množství templátu větší než 0,4 µg doporučujeme použít EliZyme™ Reverzní transkriptázu 2.0.

** Inkubace směsi primerů s templátem po dobu 5 minut při 70 °C před přidáním do reakční směsi zvýší výtěžnost cDNA. Tento krok však není pro přesnou kvantifikaci nutný.

Protokol reverzní transkripce

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Reverzní transkripce	42–55 °C*	30 min	1
Denaturace enzymu	85 °C	10 min	1

*Pro většinu aplikací (<65 % GC) doporučujeme inkubaci při teplotě 42 °C po dobu 30 minut. Pokud oblasti zájmu obsahují vysokou sekundární strukturu (>65 % GC), lze použít inkubační teplotu až 55 °C.

Výrobce:

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

info@elisabeth.cz | www.elisabeth.cz | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Číslo šarže



Datum expirace



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Výrobce



Počet reakcí v balení