ELISABETH PHARMACON, spol. s r.o.
Rokycanova 4437/5
615 00 Brno-Židenice, Česká republika
IČ: 26258412, DIČ: CZ26258412
Tel.: +420 542 213 851
E-mail: info@elisabeth.cz
www.elisabeth.cz

EliZyme™ Reverse Transcriptase 2.0

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 2.0 (RTase 2.0) je vysoce robustní a termostabilní modifikovaná M-MLV reverzní transkriptáza. Enzym lze použít k syntéze cDNA při teplotách až 65 °C, což umožňuje reverzní transkripci oblastí bohatých na GC báze či oblastí obsahujících sekundární struktury s vysokou teplotou tání. RTase 2.0 je speciálně navržena pro rychlou, citlivou a účinnou syntézu cDNA z širokého spektra koncentrací RNA s maximální výtěžností. Na rozdíl od mnoha jiných reverzních transkriptáz není EliZyme™ Reverzní transkriptáza 2.0 inhibována ribozomální ani transferovou RNA, což umožnuje syntézu cDNA z celkové RNA. Může být použita na celkovou RNA v množství od 20 pg do 3,5 µg nebo oligo(dT) purifikované mRNA.

EliZyme™ Reverzní transkriptáza 2.0 se dodává s pokročilým 5X koncentrovaným pufrem obohaceným o enhancery, dNTP a $MgCl_2$ a poskytuje tak uživatelům flexibilitu při definování vlastní strategie primingu.

Pro zajištění integrity RNA během procesu syntézy je RTase 2.0 kombinována s pokročilým inhibitorem RNáz EliZyme™ RiboProtect, který účinně chrání RNA před degradací kontaminující RNázou.

EliZyme™ Reverzní transkriptáza 2.0 je vhodná pro celou řadu aplikací, včetně syntézy cDNA pro qPCR a PCR, analýzy genové exprese, klonování, přípravy cDNA knihovny a sekvenování nové generace.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ Reverse Transcriptase 2.0	EZ2305	1×50 µl (200 U/µl) + 1×200 µl buffer	50 rxns
	EZ2320	4×50 µl (200 U/µl) + 4×200 µl buffer	200 rxns

	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ Reverse Transcriptase 2.0	5× buffer	15 mM $MgCl_2$, 5 mM dNTPs

Doplňkový $MgCl_2$ 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	1–5 µM	10–50 µM
Oligo $(dT)_{18}$	50–500 nM	0.5–5 µM

Složení reakční směsi

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

Komponenty	20 µl reakce	Finální konc.
5× EliZyme™ RT Buffer	4 µl	1×
Reverse transcriptase (200 U/µl)	1 µl	
Templátová RNA/oligo (dT) purifikovaná mRNA	20 pg–3.5 µg*	variabilní
10× Primer mix	2 µl**	1×
PCR voda	Doplnit do 20 µl	

*Pro přesnou kvantifikaci použijte 20 pg až 3,5 µg celkové RNA nebo oligo(dT) purifikovanou mRNA. Dodatečná RNA se pro kvantifikaci nedoporučuje, nebyla by tak zaručena celková reverzní transkripce. Protože se koncentrace cílových sekvencí liší, pro zjištění optimální koncentraci pro svou aplikaci, doporučujeme uživatelům provést titraci templátu.

**Inkubace templátu s primery před reverzní transkripcí může zvýšit množství cDNA, avšak tento krok není pro přesnou kvantifikaci nutný. Pokud je preinkubace žádoucí, inkubujte templát s primery po dobu 2 minut při 70 °C a poté jej před přidáním do reakce rychle ochlaďte na 4 °C.

Protokol reverzní transkripce

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Reverzní transkripce	50–55 °C*	10–30 min	1
Denaturace enzymu	95 °C	10 min	1

*Pro většinu aplikací doporučujeme inkubaci při teplotě 50 °C po dobu 30 minut. Pokud oblasti zájmu obsahují vysokou sekundární strukturu (>65 % GC), lze použít inkubační teplotu až 70 °C. To však může snížit aktivitu enzymu s následkem menšího celkového objemu cDNA. Při porovnávání vzorků by měla být použita stejná teplota.

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

Skladovací podmínky (teplotní limity)

Číslo šarže

Výrobce

Datum expirace

Počet reakcí v balení