



Application

# FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis 5x ReadyMix OdT Oligo dT を加えた効果の検証

製品カテゴリ

逆転写酵素

製品名

FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis 5x ReadyMix OdT  
(マスターミックスタイプ/ランダムヘキサマー+オリゴdTプライマー入り) Cat.No.NE-LS65

メーカー名

日本ジェネティクス株式会社 / FastGene™

下記のデータは、東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻生体情報学研究室 馬谷 千恵 様より情報をご提供いただきました。

## 概要

従来品 (FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis 5x ReadyMix, NE-LS64) は、逆転写プライマーとして、「ランダムヘキサマー」のみを含む、マスターミックス (プレミックス) タイプの逆転写酵素試薬でした。

この製品は、「ランダムヘキサマー」と「オリゴdTプライマー」を含むT社製品と比較した場合、逆転写効率が低い傾向を示していました。

そこで、今回弊社にて、従来品に「オリゴdTプライマー」を加えた、FastGene™ Scriptase II cDNA Synthesis 5x ReadyMix OdT (NE-LS65) を新たにご用意しました。

その効果を本アプリケーションノートで検証したところ、逆転写効率が向上し、T社製品との比較をしても、遜色のない逆転写効率を得ることができるとわかりました。

また、本結果は、従来品で使用されていた時間短縮プロトコルを適用できるという事も意味しています。

## 【補足】

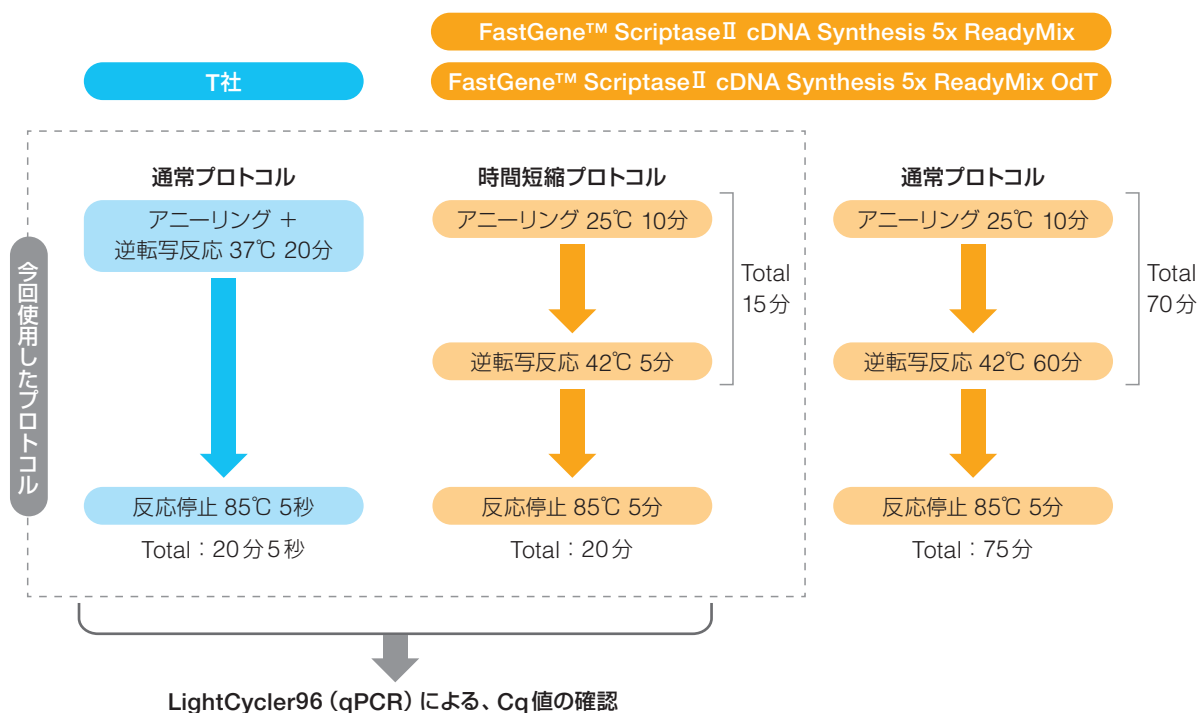
本検証では、T社の逆転写酵素試薬と近い条件で比較を行うため、テクニカルノート2017<EU1>

(<https://www.n-genetics.com/products/1148/1024/16742.pdf>) に記載のある時間短縮プロトコルを用いて、逆転写を行い、逆転写効率の比較検証を行いました。

## 実験方法

メダカの全脳からTotal RNAを抽出した。

Total RNA 250 ngを使用して、逆転写 1回、qPCR 1回を行い、Cq値を得た。



## 結果

### 【T社と従来品（ランダムヘキサマーのみ）の比較】

qPCRの結果：Cq値の比較（n=1）

T社	FastGene™(NE-LS64：ランダムヘキサマーのみ)
19.47	21.65

遺伝子：rps13  
PCR産物：93 nt  
PCR primerターゲット領域（5'より数えて、62 nt～154 ntの領域）

### 【T社と本製品（ランダムヘキサマーとオリゴdTプライマーを含む）の比較】

qPCRの結果：Cq値の比較（#1～#3はメダカ個体）

テンプレート	T社	FastGene™
#1	19.35	18.82
#2	19.36	19.09
#3	19.51	19.04
Ave	19.41	18.98

遺伝子：rps13  
PCR産物：93 nt  
PCR primerターゲット領域（5'より数えて、62 nt～154 ntの領域）

オリゴdTプライマーを加えたことで、逆転写が速やかに行われるようになった。

#### ● 結論

従来品に「オリゴdTプライマー」を加えた本製品は、従来品の逆転写効率と比較し、性能に改善がみられた。また、本製品を使用した本遺伝子に関する逆転写反応において、逆転写反応時間を通常の60分から5分間に短縮した『時間短縮プログラム』で、T社キットと遜色のない時間で、かつ同等以上の逆転写効率を実現できることがわかった。



#### お客様のコメント

従来品に「オリゴdTプライマー」を加えた本製品では、2サイクルも早く立ち上がり、よりよい逆転写効率を得ることができた。

### FastGene™の逆転写キット一覧

逆転写酵素仕様比較表	FastGene™ Scriptase Basic		FastGene™ Scriptase II				
	逆転写酵素	cDNA合成キット	逆転写酵素	cDNA合成キット	プレミックスタイプ		
Cat.No	NE-LS52	NE-LS62	NE-LS53	NE-LS63	NE-LS64	NE-LS65	
逆転写反応温度	42℃～50℃		42℃～50℃		42℃		
所要時間	60 min		50 min（時間短縮の技術資料あり）		（5 min～）60 min		
RNase H 活性	あり		活性を低下させている				
最大RNA添加量	最大5 µg/20 µL		最大5 µg/20 µL		最大2.5 µg/20 µL		
キット内容	逆転写酵素	○	○	○	○	●	●
	バッファー	○	○	○	○	●	●
	dNTP mixture	○	○	○	○	●	●
	滅菌水	○	○	○	○	×	×
	DTT	×	×	○	○	×	×
	RNase Inhibitor	×	○	×	○	●	●
	Oligo dT primer	×	○	×	○	×	●
	Random hexamer primer	×	○	×	○	●	●
補助タンパク質	×	×	×	×	●	●	
備考	アプリケーションに応じた逆転写プライマー選択が可能				qPCR用に最適		

○：個別チューブとしてキットに含まれているため、任意の量で調整可能です。

×

●：プレミックスタイプとして5x FastGene™ Scriptase II ReadyMixに含まれています。