

## 取扱説明書

スクリプテース

## FastGene™ Scriptase II 5x ReadyMix OdT

Cat.No.	概要	包装単位
NE-LS65	FastGene™ Scriptase II 5x ReadyMix OdT	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。

## ReadyMix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5xReadyMix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 Oligo dTs Primer) 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、ReadyMix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°C・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。

## 【注意点】

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。

Oligo dT プライマーで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、ランダムプライマーやoligo dTプライマーを別バイアルで提供しているFastGene™ Scriptase II cDNA Synthesisキットをご利用ください。

## 【保存条件】

-20°C

## 【キット内容】(反応100回分)

- FastGene™ Scriptase II 5x ReadyMix OdT (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  
オリゴdTプライマー  
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 (LS65)	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1 µg

- 25°Cで10分間インキュベーションする。

- 42°C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°C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°Cで保存する、又は、ダウンストリームアプリケーションでcDNAを使用する。

注記：cDNA (逆転写反応液) は、原液としての添加量がqPCRのトータル反応液量の10%未満になるようご注意ください。  
(未希釈反応液はqPCR反応液の最大10%まで)