

Обратная транскриптаза Magnus

Кат. ## SK006S, SK006M

Версия 1 от 21 апреля 2022 г.

Обратная транскриптаза Magnus предназначена для синтеза первой цепи комплементарной ДНК с одноцепочечной матрицы РНК.

Обратная транскриптаза Magnus — модифицированная ревертаза MMLV. Особенностью Magnus является повышенная термостойкость и отсутствие активности РНКазы H, что позволяет:

- Увеличить температуру обратной транскрипции для повышения специфичности реакции.
- Проводить синтез кДНК на GC-богатых областях и на матрицах со сложной вторичной структурой.
- Получать кДНК длиной до 12 000 п.о.

Состав

Компонент	SK006S 10 000 е.а.	SK006M 50 000 е.а.
Обратная транскриптаза Magnus (Magnus Reverse transcriptase)	100 мкл (100 е.а./мкл)	500 мкл (5 x 100 мкл) (100 е.а./мкл)
5X буфер для синтеза первой цепи (5X First strand buffer)	220 мкл	1.1 мл (5 x 220 мкл)
DTT (20 mM)	110 мкл	550 мкл (5 x 110 мкл)
dNTP mix (10 mM each)	200 мкл	600 мкл (3 x 200 мкл)
Вода деионизированная свободная от нуклеаз (Deionized water, nuclease-free)	1.5 мл	3 мл (2 x 1.5 мл)

Хранение и транспортировка: –20 °С.

Срок годности: 12 месяцев с даты поставки при соблюдении условий хранения и транспортировки.

Область применения

- Синтез первой цепи кДНК с дальнейшей возможностью амплификации, клонирования и экспрессии.
- Синтез первой цепи кДНК с последующим анализом с помощью ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Частные случаи применения: синтез первой цепи кДНК-копии РНК-вирусов для последующей качественной или количественной оценки.

Только для использования в научно-исследовательских целях.

Основные характеристики

- Температурный оптимум работы: 55–60 °С.
- Длина синтезируемой кДНК: до 12 000 п.о.*
- Время реакции: 15 мин.
- Количество РНК на реакцию: от 50 нг до 5 мкг тотальной РНК.

* При условии использования РНК высокого качества (очищенную от ДНК, $A_{260}/_{280} \geq 2$, $A_{260}/_{230} \geq 2.1$, на агарозном геле РНК в виде четких хорошо различимых полос). Для выделения РНК рекомендуется использовать набор RNA Solo (кат. ## BC034T, BC034M, Евроген).

Количество реакций

Набор SK006S рассчитан на 50 реакций объемом 20 мкл или 100 реакций объемом 10 мкл.

Набор SK006M рассчитан на 250 реакций объемом 20 мкл или 500 реакций объемом 10 мкл.

Протокол синтеза первой цепи кДНК

Внимание! Все манипуляции с РНК проводить в зоне, свободной от РНКаз. Во время работы использовать перчатки, наконечники с фильтром и другой лабораторный пластик, свободный от РНКаз.

В процессе работы РНК и компоненты набора держать на льду.

Рекомендации по проведению обратной транскрипции:

- Проводите реакцию в объеме 20 мкл. При необходимости объем реакции можно уменьшить до 10 мкл, уменьшив в 2 раза количество всех компонентов смеси, кроме РНК.

– В каждую постановку включайте реакцию NoRT (без ревертазы Magnus) для контроля контаминации образца РНК примесью ДНК и реакцию NTC (без РНК) для контроля контаминации реакционной смеси.

1. Смешайте в пробирке следующие компоненты:

РНК:	50 нг – 5 мкг тотальной РНК;
Праймер:	4 мкл Oligo (dT) праймера (20 мкМ) или 2 мкл специфического праймера (10 мкМ) или 2 мкл случайной затравки (20 мкМ);
Вода без нуклеаз:	доведите объем до 10 мкл.

2. Прогрейте смесь 2 минуты при 70 °С, перенесите образцы в лед.

3. Добавьте 10 мкл предварительно подготовленной смеси:

4 мкл	5X буфера для синтеза первой цепи;
2 мкл	dNTP Mix (10 mM each);
2 мкл	DTT (20 mM);
2 мкл	Magnus ревертазы.

4. Перемешайте смесь с помощью пипетки, стряхните капли на миницентрифуге.

5. Проведите инкубацию:

55 °С**	— 15 минут*** при использовании Oligo (dT) праймера или случайной затравки;
70 °С	— 5 минут.

** При использовании специфического праймера температурный диапазон может варьироваться от 55 °С до 60 °С (в зависимости от последовательности и температуры отжига праймера).





*** Допускается увеличение времени инкубации до 30 минут при работе с низкими концентрациями матрицы и необходимости синтезировать кДНК длиной 12 000 нуклеотидов.





Полученная первая цепь кДНК готова к использованию, в том числе в качестве матрицы для ПЦР (рекомендуемое количество кДНК в ПЦР: 1–2 мкл в реакцию объемом 25 мкл или 2–4 мкл — в 50 мкл).

Избегайте избыточных циклов замораживания-размораживания кДНК. Перед длительным хранением кДНК рекомендуется распределить на аликвоты и заморозить.

кДНК может храниться до 3-х месяцев при –20 °С, более длительное хранение возможно при –70 °С. После размораживания прогреть аликвоту кДНК в течение 2 минут при 65 °С.




Наборы и сервисы Евроген

    – ссылка на страницу НАБОРА





Выделение и очистка нуклеиновых кислот    









Реактивы для ПЦР и ПЦР-РВ    

Синтез и амплификация кДНК       

Клонирование ДНК        

Выявление контаминации микоплазмой    





Оценка ДНК    

Нормализация кДНК        

Практикум по геной инженерии    

Генотипирование    

Синтез олигонуклеотидов и зондов    

Секвенирование по Сэнгеру    

NGS секвенирование    

Синтез генов    

Сайт-направленный мутагенез    

Синтез органических соединений    

Консультация по продуктам: support@evrogen.ru

Подробную информацию о наших наборах и сервисах
можно получить на сайте www.evrogen.ru

ЗАО Евроген
Москва 117997
ул. Миклухо-Маклая 16/10, к. 15
Тел.: +7 (495) 784-7084
order@evrogen.ru
www.evrogen.ru