

カネカ Reverse Transcriptase キット

取扱説明書

注意

- 本品は研究用です。ヒト、動物への医療、臨床診断に使用しないでください。また、食品、化粧品、家庭用品等としても使用しないでください。
- 本品の使用にあたっては、保護具（保護手袋、保護メガネ等）着用など、実験室での一般の注意事項を厳守し、安全に留意してください。
- 誤って目に入った場合や皮膚に付着した場合は、よく水洗いするなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当などを受けてください。

特徴・用途

- M-MLV RTaseに変異を加えることで反応効率・伸長性を向上させ、 $10^2 \sim 10^3$ copiesの鋳型RNAからもcDNA合成が可能です。

製品

内容物 (100テスト分)	
カネカ Reverse Transcriptase *	100 μ L \times 1本
5 \times カネカ Reverse Transcriptase バッファー	1 mL \times 1本
10 mM dNTPs	200 μ L \times 1本

*「カネカ Reverse Transcriptase」は、各ロットにおいてPoly(rA)を鋳型としてDNA増幅を確認しています。

- 本品にはcDNA合成後のPCR用試薬は付属しておりません。各社（弊社含む）から販売されているポリメラーゼ等の試薬をご利用ください。

保存方法／使用期限

- 保存方法 -20 $^{\circ}$ Cで保存してください。
- 使用期限 本品外袋に記載しております。

保証

- 弊社の責任の範囲は、本品自体に不具合があった場合の代替品への交換のみに限られ、直接・間接を問わずその他一切の損害について弊社はその責に任じません。予めご了承ください。

カネカ Reverse Transcriptase キット

使用方法

■凍結している本品は完全に融解してからご使用ください。

(各内容物の融解温度)

- ・カネカ Reverse Transcriptase: -30°C
- ・5×カネカ Reverse Transcriptase バッファー: -20°C
- ・10 mM dNTPs: -20°C

■本品を融解して使用した後、再度 -20°C で保存してください。再凍結していただいても品質上問題は生じません。

5×カネカ Reverse Transcriptase バッファーを溶解したときに浮遊物(沈殿)がでることがあります。

これは還元剤の一部が析出したものです。転倒混和し、溶かしてご使用ください。

■逆転写反応液を調製する前に本品の各内容物を十分混合してご使用ください。

■本品以外の試薬を十分混合した上で、本品に添加して逆転写反応液を調整してください。

その後、滅菌水を加え、十分混合しサーマルサイクラーにセットしてください。

1. 逆転写反応液の調製例

組成	Volume	最終濃度
5×カネカ Reverse Transcriptase バッファー	4 μL	1×
カネカ Reverse Transcriptase	1 μL	
10mM dNTPs	2 μL	1 mM
Total RNA またはpoly(A)+RNA	0.5~5 μg	
プライマー		
Oligo(dT)	50~500 ng	
or		
Gene Specific Primer (10 pmoles/ μL)	0.5 μL	
or		
Random Primers (25 pmoles/ μL)	1 μL	
滅菌水	to 20 μL	

2. 逆転写反応(RT-PCRのための1本鎖cDNA合成)温度および時間条件例

- ①アニーリング(30°C 、10分)^{注1}
- ②cDNA合成反応(42°C 、20~60分)^{注2}
- ③変性(99°C 、5分)^{注3}

注1: Random Primer を使用する場合のみ必要な操作です。

注2: 本品は通常 42°C で反応を行います。反応性向上のために温度を上げる場合はプライマーのアニーリング効率に留意する必要があります。

注3: 実施しない場合、DNA-RNAハイブリッドにタンパク質などの不純物が結合し、逆転写反応溶液を用いたPCRが阻害される可能性があります。

カネカ Reverse Transcriptase キット

廃棄方法

- 残余廃棄物 少量であればペーパータオルやウエスに吸収させて焼却処分する。
- 汚染容器及び包装 廃棄する場合、内容物を完全に除去した後に処分する。

使用上の注意

- RNAは高次構造をとる場合があります、これを緩和するために以下の操作によって一度RNAを熱変性させてから反応を開始させると効率が上がることがあります。
 - i. RNA、プライマー、滅菌水のみで65℃、5分間の熱処理を行い、直ちに氷上に移して急冷する。
 - ii. 冷却した後、本品を加え反応を行う。
- 逆転写反応液をPCRの鋳型DNAに用いる場合、残存の過剰RNAがPCR反応を阻害する場合があります。PCR反応液50 μ Lに添加する逆転写反応液量は、RNA量として100 ng以下を推奨します。
- 本品使用して得られた逆転写反応液をPCRに用いる場合、PCR反応の総液量は20 μ L以下を推奨いたします。

お問い合わせ先

カガクで
ネガイを
カナエル会社

株式会社カナカ MedicalDevices Solutions Vehicle 検査診断事業開発グループ

〒676-8688

兵庫県高砂市高砂町宮前町1-8

TEL 079-445-2406 FAX 079-445-2459

お問い合わせ受付時間: 平日9:00~17:00

URL <https://www.kaneka-labtest.com>