



1st strand cDNA 合成キット

GeneAce cDNA Synthesis Kit

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(税別)
319-08881	GeneAce cDNA Synthesis Kit	50回用	¥33,000

本キットは、RNAを鋳型に1st strand cDNAを合成するためのキットです。

M-MLV由来 (RNase H-) 逆転写酵素「GeneAce Reverse Transcriptase」を採用しているため、効率良く長鎖cDNAを合成することができます。また、逆転写反応後にRNase H処理を行うことにより、PCR阻害を引き起こす要因となり得る鋳型RNAを分解することができます。

特長

- cDNA合成に必要な試薬が全てセット
- 完全長cDNAの合成効率が向上
- RNase H処理によりRT-PCRの効率が向上
- リアルタイムPCR試薬との組み合わせに最適 (GeneAce qPCR Mix シリーズ)

キット内容

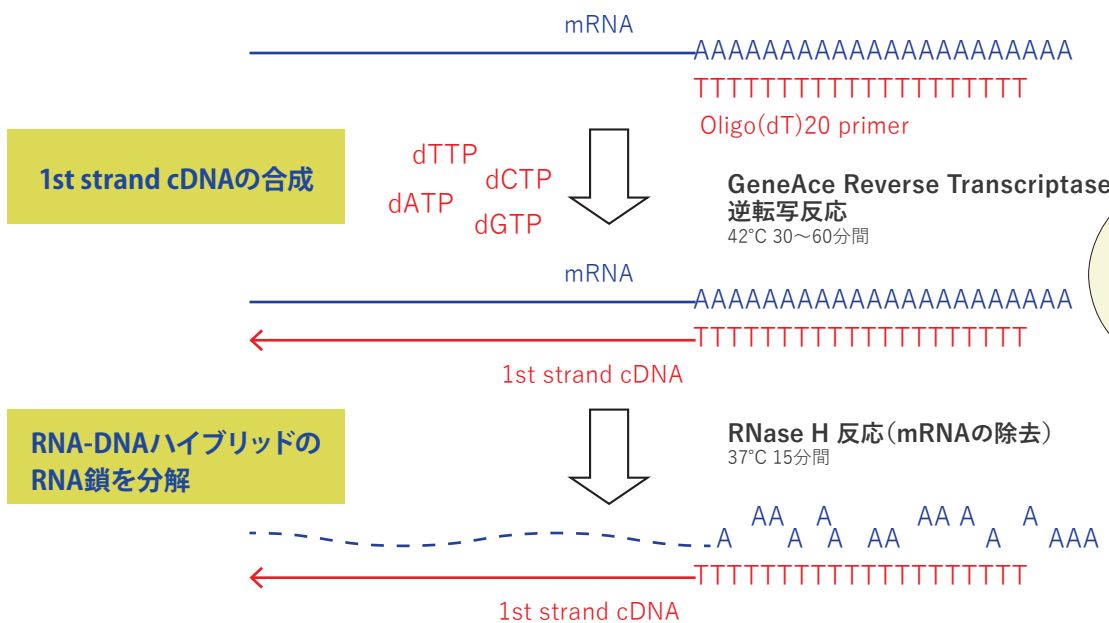
(容量:50回用*)

- ▶ GeneAce Reverse Transcriptase 50 µL×1本
- ▶ 5×RT Buffer 1 mL×1本
- ▶ RNase Inhibitor 50 µL×1本
- ▶ 10 mM dNTP Mixture 50 µL×1本
- ▶ Oligo(dT)20 primer (50 µM) 50 µL×1本
- ▶ Random hexamers (50 µM) 50 µL×1本
- ▶ RNase H 50 µL×1本
- ▶ ddWater (RNase free) 1 mL×2本

* 1反応あたり20 µL容量でcDNA合成反応を行った場合

簡易フロー 1st strand cDNA の合成*とRNA鎖の除去

* Oligo (dT)20 primer を用いて mRNA を鋳型にした場合



RT-PCRの増幅効率が悪い場合はRNase H処理することでPCR効率が向上する可能性があります。



GeneAce cDNA Synthesis Kit

実験例① 長鎖cDNA (10 kb)の合成効率の比較

マウスFM3A細胞 total RNA (2 µg) を鋳型に Oligo (dT) primer を使用してcDNAを合成した。得られたcDNAを鋳型にリアルタイムPCRを行い、Utrophin遺伝子のcDNA量を比較した。(プライマーは3'末端から約10 kb付近に設計)

リアルタイムPCR試薬: GeneAce SYBR® qPCR Mix α Low ROX

検出対象: Utrophin遺伝子 (約10 kbp)

結果 | 本キットは、他社製品よりも長鎖cDNAの合成効率が高いことが示された。

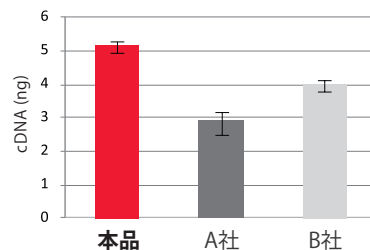


図1. cDNA合成量の比較

実験例② RNase H処理の効果検証

HeLa細胞 total RNA (2 µg) を鋳型に、本キットを用いてcDNAを合成した。得られたcDNAを鋳型にして、RNase H処理の有無によるPCR効率の比較を行った。

RNase H処理あり (Lane +): RNase H 処理 (37°C, 15分間) した cDNA (DNA一本鎖) を鋳型にしたPCR産物

RNase H処理なし (Lane -): 得られたcDNA (DNA-RNAヘテロ二本鎖) をそのまま鋳型にしたPCR産物

マーカ (Lane M): Gene Ladder Wide 1 (Code No. 313-06961)

検出対象: EPAS1遺伝子一部領域 (約2.6 kb)

結果 | RNase H処理によりPCR効率が向上した。

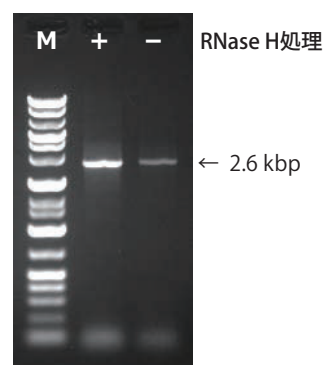


図2. PCR産物の電気泳動像

実験例③ total RNAからのcDNA合成とリアルタイムPCR実験

HeLa細胞 total RNA を鋳型に、本キットを用いてcDNAを合成した。得られたcDNAを段階希釈し、リアルタイムPCRを行った。

RNA抽出キット: ISOSPIN Cell&Tissue RNA

リアルタイムPCR試薬: GeneAce Probe qPCR Mix II

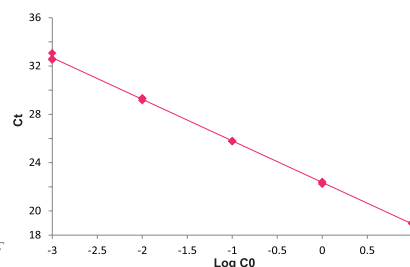
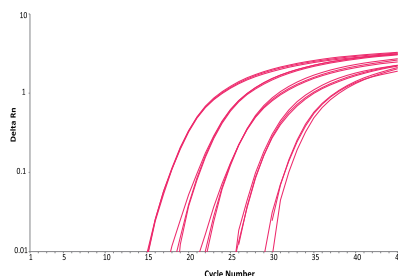
鋳型: cDNA段階希釈

(RNA相当量: 10ng, 1ng, 100pg, 10pg, 1pg)

検出対象: β-actin一部領域

PCR条件: (装置: ABI7500)

95°C10分→[95°C30秒→60°C1分]×45サイクル



結果 | 当社製品を組み合わせ、total RNAからのcDNA合成とリアルタイム PCR を良好に行うことができた。

関連製品

品名	包装単位	Code No.	用途
ISOSPIN Cell & Tissue RNA	50回用	314-08211	動物細胞や組織からのRNA抽出キット
GeneAce Probe qPCR Mix II	200反応用	313-08823	リアルタイムPCR試薬 (蛍光標識プローブ検出系)
GeneAce SYBR® qPCR Mix α	300反応用	319-07683	リアルタイムPCR試薬 (SYBR® Green I 検出系) 対応機種の詳細は、WEBサイトをご覧ください。
GeneAce SYBR® qPCR Mix α Low ROX	300反応用	316-07693	
GeneAce SYBR® qPCR Mix α No ROX	300反応用	319-07703	

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山市間屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <https://www.nippongene.com>

販売元 **富士フイルム 和光純薬株式会社**

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806