

RTmate

 Reverse Transcription
Assistant Reagent

Enhance your RT!

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格
315-05941	RTmate	500 μ l	16,000円

RTmate はT7 RNA Polymeraseで合成した976ヌクレオチドからなるRNAです。

鋳型RNA量が微量な場合、本品を添加してRT反応を行うことで、RT-PCRの感度が向上します。

製品内容

 RTmate (50ng/ μ l) 500 μ l \times 1本

保存

 -20
ただし長期保存の場合には-80

* 試験研究用試薬です。
医薬品の用途には使用できません。

効果1 : RT-PCRの検出限界感度が上昇します!
効果2 : RT-PCRの最終増幅産物が増加します!
使用方法

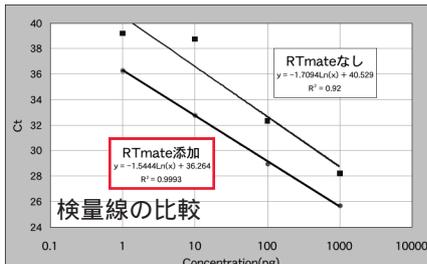
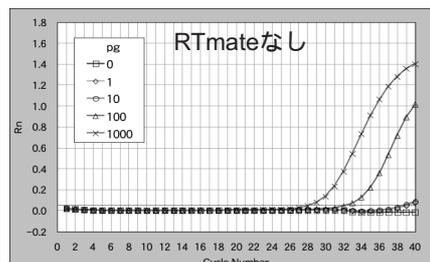
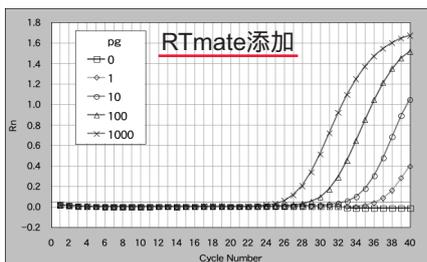
本品を10 \times 濃度品としてRT反応または1 step RT-PCRの反応系に添加します。終濃度5ng/ μ lでの使用となります。

塩基配列

RTmateに使用している合成RNAの塩基配列は弊社ホームページで公開しています。

**(例) RT反応への添加
逆転写反応液の組成**

10 \times Reaction Buffer	1.0 μ l
25mM MgCl ₂	2.0 μ l
2.5mM dNTP	2.0 μ l
50 μ M Oligo(dT)	0.5 μ l
RNase Inhibitor (20U/ μ l)	0.2 μ l
Reverse Transcriptase (50U/ μ l)	0.25 μ l
Total RNA	1.0 μ l
RTmate	1.0 μl
d.d.H ₂ O (RNase free)	2.05 μ l
Total	10.0 μl

実験例

(1)RT-PCR

ISOGENで抽出したマウス(C57BL/6)肝臓 Total RNA中のInsulin-like growth factor-I(IGF-I) mRNAを2 step Quantitative RT-PCRで検出した。first stepのRT反応にRTmateを添加し、second stepのDouble-Dye Probeを用いたQuantitative PCRにおける増幅曲線、検量線を対照実験のデータと比較することで、RTmateの効果を確認した。

(2)アガロースゲル電気泳動

(1)と同様のRNAについて、-actin mRNAのRT-PCR最終増幅産物のアガロースゲル電気泳動を行った。



RTmateなし RTmate添加

- 1: 鋳型RNA量 0 pg
 - 2: 鋳型RNA量 1 pg
 - 3: 鋳型RNA量 10 pg
 - 4: 鋳型RNA量 100 pg
 - 5: 鋳型RNA量 1000 pg
 - 6: 鋳型RNA量 10000 pg
- M: マーカー(50 Base Ladder)
増幅長: 71bp

結果

RTmateの添加によって、低鋳型量におけるRT-PCR増幅産物量の増加と、それによる感度上昇が確認された。

結果

RT反応へのRTmateの添加によってQuantitative PCRでの増幅効率が良い(Ct値が低く)なり、直線性の高い検量線が得られた。