



Reverse Transcriptase (CN: KPG-RT)

• معرفی محصول:

بسیاری از ویروس ها از RNA به عنوان ژنوم بهره میبرند. این ویروس ها در چرخه تکثیر از آنزیمی به نام Reverse Transcriptase (RT) برای تبدیل RNA خود به DNA استفاده می کنند. در آزمایشگاه نیز از این آنزیم برای تبدیل RNA به DNA که در اصطلاح Complementary (cDNA) گفته می شود برای مقاصد زیادی استفاده می شود. این آنزیم در ویروس و در مدل وحشی فاقد قدرت تحمل حرارت می باشد. از طرفی RNA تخلیص شده برای تبدیل شدن به cDNA بایستی تحت دمای مشخصی کلاف های آن باز شده و در معرض آنزیم RT قرار گیرد. بنابراین آنزیم های RT مقاوم به حرارت برای این منظور بسیار مناسب می باشند. آنزیم RT فرم وحشی دارای خاصیت RNase نیز می باشد که در فرم صنعتی و مورد کاربرد در آزمایشگاه این ویژگی باید حذف شده باشد.

مشخصات آنزیم RT ساخت شرکت کارمانیا پارس ژن

- پروتئین نو ترکیب
- درجه خلوص ۹۸ درصد
- قابلیت سنتز cDNA از مقادیر بالای RNA
- قابلیت سنتز cDNA در دماهای بالاتر از ۶۰ درجه سانتیگراد (مقاوم به دما)
- بدون خاصیت RNase

کاربرد آنزیم:

- بیولوژی مولکولی
- PCR
- TA-cloning

محتویات

➤ آنزیم Reverse Transcriptase (۵۰ میکرولیتر)

➤ RT buffer (۲۰۰ میکرولیتر)

کاربرد

- تبدیل RNA به cDNA
- مورد استفاده در کیت سنتز cDNA
- مورد استفاده در مسترمیکس One-step

بافر ذخیره سازی (Storage buffer)

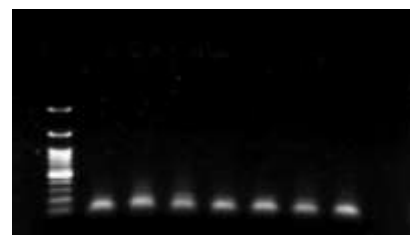
(10 mM Tris-HCl (pH 8.1), ۲۰ میلی مولار EDTA, ۰.۱ میلی مولار 2ME

۸ میلی مولار، تثبیت کننده ها و ۵۸٪ گلیسرین

کنترل کیفی

۱ میکرولیتر RNA ژنومیک با ۱۰ واحد RT در بافر تست ۵۰ میکرولیتری حاوی ۱.۵ میلی مولار MgCl₂ به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد و RNA بدون تخریب مشاهده شد.

با استفاده از آنزیم RT ساخت شرکت کارمانیا پارس ژن سنتز cDNA در دماهای ۴۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد انجام شد و نتایج زیر به دست آمد:



همانگونه که در تصویر مشخص است سنتز cDNA در دماهای ۴۵ تا ۶۵ درجه سانتیگراد کاملاً یکسان انجام شده است و آنزیم به خوبی دماهای بالاتر از ۶۰ درجه سانتیگراد را تحمل می کند و کیفیت تبدیل کاهش نیافته است.

پایداری حرارتی:

۱۰ واحد آنزیم در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد و سپس در واکنش PCR استفاده گردید و در انتها توسط الکتروفورز محصول PCR تجزیه و تحلیل و تایید پایداری آنزیم در دمای بالا گردید.

پروتکل پیشنهادی برای سنتز cDNA

از دستورالعمل زیر به عنوان یک دستورالعمل کلی استفاده کنید:

Components	Volume
RT buffer	4 µl
10mM dNTP mix	1 µl
Oligo-dT primers (10µM) Or Random Hexamer (10µM)	1 µl
Template RNA	5 µg
RT Enzyme	1 µl (1 unit/50 µl reaction)
RNase/DNase free distilled water up to	20 µl

برنامه پیشنهادی دمایی:

cDNA synthesis 45-65°C (47°C recommended)	60 minutes
Inactivation 95°C	10 minutes

با ما در تماس باشید

۰۳۴۳۴۲۰۸۰۲۵-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR



Reverse Transcriptase (CN: KPG-RT)

product introduction :

Many viruses use RNA as their genome. In the replication cycle, these viruses use an enzyme called Reverse Transcriptase (RT) to convert their RNA into DNA. In the laboratory, this enzyme is used to convert RNA to DNA, which is called Complementary DNA (cDNA) for many purposes. This enzyme lacks heat tolerance in the virus and in the wild model. On the other hand, in order to convert the purified RNA into cDNA, its coils must be opened under a certain temperature and exposed to the RT enzyme. Therefore, heat-resistant RT enzymes are very suitable for this purpose.

The wild form RT enzyme also has RNase property, which must be removed in the industrial form and used in the laboratory.

Application:

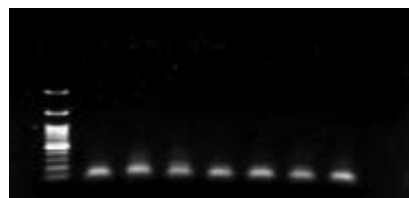
- Convert RNA to cDNA
- Used in cDNA synthesis kit
- Used in One-step mastermix

Storage buffer

Tris-HCl (pH 8.1) 20 mM, EDTA 0.1 mM, 2ME 8 mM, stabilizers and 58% glycerin

quality control:

1 microliter of genomic RNA was incubated with 10 units of RT in 50 microliter test buffer containing 1.5 mM MgCl₂ for 16 hours at 65°C, and the RNA was observed without degradation. Using the RT enzyme manufactured by Karmania Parsgen Company, cDNA synthesis was performed at temperatures of 45 to 65 degrees Celsius and the following results were obtained:



As it is clear in the picture, the synthesis of cDNA was carried out at temperatures of 45 to 65 degrees Celsius, and the enzyme tolerates temperatures above 60 degrees Celsius well, and the quality of conversion did not decrease.

Thermal stability:

10 units of the enzyme were incubated at 95 degrees Celsius for 30 minutes and then used in the PCR reaction, and at the end, the PCR product was analyzed by electrophoresis and confirmed the stability of the enzyme at high temperature.

Proposed protocol for cDNA synthesis

Use the following instructions as a general guideline:

Components

Volume

RT buffer	4 µl
10mM dNTP mix	1 µl
Oligo-dT primers (10µM) Or Random Hexamer (10µM)	1 µl
Template RNA	5 µg
RT Enzyme	1 µl (1 unit/50 µl reaction)
RNase/DNase free distilled water up to 20 µl	

Recommended temperature program:

cDNA synthesis	45-65°C (47°C recommended)
60 minutes	
Inactivation 95°C	10 minutes

با ما در تماس باشید

۰۳۴۳۴۲۰۸۰۲۵-۰۹۱۳۲۹۲۶۱۱۳

WWW.KARMANIAPARSGEN.IR