



Инструкция по применению

Genta REV M ревертаза (обратная транскриптаза)

Обратная транскриптаза MMLV

Версия 1 от 19.01.2023

1. ОПИСАНИЕ

Genta REV M ревертаза (обратная транскриптаза) — генетически модифицированная обратная транскриптаза вируса мышиной лейкемии Молони (MMLV), предназначенная для синтеза комплементарной цепи ДНК (кДНК) на матрице одноцепочечной РНК. Genta REV M выделена из штамма *Escherichia coli*, экспрессирующего модифицированный ген обратной транскриптазы MMLV.

По сравнению с обратной транскриптазой «дикого типа» Genta REV M ревертаза обладает повышенной термостабильностью: оптимальная температура для работы фермента — 50°C, фермент сохраняет активность при температуре до 65°C. Обратная транскриптаза Genta REV M ревертаза обеспечивает более высокий выход кДНК, позволяет синтезировать более длинные фрагменты, имеет улучшенную эффективность при использовании GC-богатых РНК-матриц, а также имеет более высокую продуктивность.

Обратная транскриптаза Genta REV M ревертаза подходит для ОТ-ПЦР в формате «one-step».

2. СОСТАВ

Компоненты	RP-E-005-S	RP-E-005-L	RP-E-005-X (под заказ)
Genta REV M ревертаза, 100 000 ед./мл	0,1 мл	5 x 0,1 мл	XXX мл
Буфер Genta-B 2	1,25 мл	5 x 1,25 мл	-

3. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

- Синтез кДНК
- Одностадийная ОТ-ПЦР
- Приготовление библиотек ДНК
- Вставка меченых нуклеотидов в кДНК

4. БУФЕР ДЛЯ ХРАНЕНИЯ

20 mM Трис-НСl, pH 7.5 (при 25°C); 200 mM NaCl; 0.1 mM ЭДТА; 50% глицерин; стабилизаторы
АО «ГенТерра». 129085. г. Москва, ул. Годовикова д. 9, стр. 1, этаж 1, подъезд 1, пом. 1.12,
+7 495 721 29 70 +7 929 692 58 64 www.genterra.ru info@genterra.ru



Инструкция
**Genta REV M ревертаза (обратная
транскриптаза)**

Версия 1
от 19.12.2022
Стр 2

5. ПРОТОКОЛ РАБОТЫ. ОДНОСТАДИЙНАЯ ОТ-ПЦР

1. Приготовить разведение Genta REV M обратной транскриптазы, используя Буфер Genta-B 2. Рекомендуемая степень разведения – от 2 до 10 раз. Готовое разведение фермента можно хранить до 12 месяцев при температуре от минус 24°C до минус 16°C.
2. Для минимизирования возможной ошибки пипетирования рекомендуется приготовить реакцию смесь, содержащую все компоненты, кроме РНК-матрицы, в расчете на нужное количество реакций плюс одна. Внести в пробирки аликвоты реакционной смеси и затем добавить требуемое количество ДНК-матрицы.
3. Состав реакционной смеси:

Компонент	На 25 мкл реакции	На 50 мкл реакции	Конечная концентрация
5-кратный ПЦР-буфер	5 мкл	10 мкл	1-кратный
10 мМ смесь дНТФ (50x)	0,5 мкл	1 мкл	0,2 мМ каждого
Прямой праймер, 10 мкМ	0,5 мкл	1 мкл	0,2 мкМ
Обратный праймер, 10 мкМ	0,5 мкл	1 мкл	0,2 мкМ
Флуоресцентный зонд, 10 мкМ	0,25 мкл	0,5 мкл	0,1 мкМ
ДНК-полимераза, 5 000 ед/мл	0,25 мкл	0,5 мкл	1,25 ед/реакцию
Genta REV M обратная транскриптаза (разведение)	0,25 мкл	0,5 мкл	От 2,5 ед/реакцию
РНК-матрица	0,5 мкл	1 мкл	10 пг – 1 мкг
Вода для ПЦР	До 25 мкл	До 50 мкл	

4. Условия термоциклирования:
запустить программу амплификации (согласно рекомендациям для используемой ДНК-полимеразы), добавив предварительный этап обратной транскрипции:
температура 50 - 55°C, продолжительность 15 – 30 минут.

6. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ

Температура хранения: - 20°C.

Условия транспортировки: в термоконтейнере с хладоэлементами, при температуре от 2°C до 8°C не более 7 суток.

Срок хранения при соблюдении условий хранения и транспортировки: 24 месяца с момента производства.



СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА

✓ **Неспецифическая экзодезоксирибонуклеазная активность**

Инкубация 200 ед. фермента с 1 мкг лямбда ДНК/Hind III при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимой деградации фрагментов ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

✓ **Неспецифическая эндонуклеазная активность**

Инкубация 300 ед. фермента с 1 мкг ДНК pUC19 при 37°C в течение 4 часов не приводит к видимому изменению электрофоретической подвижности ДНК (по результатам агарозного гель-электрофореза).

✓ **РНКазная активность**

Инкубация 300 ед. фермента с флуоресцентным РНК-субстратом при 37°C в течение 1 часа не приводит к разгоранию флуоресценции.

✓ **Чистота белка (SDS-ПААГ)**

Genta REV M имеет чистоту $\geq 99\%$, определено путём окрашивания SDS-ПААГ раствором Кумасси.

✓ **Контаминация геномной ДНК *E.coli* (ПЦР-РВ)**

Минимум 300 единиц Genta REV M ревертазы были проверены на наличие геномной ДНК *E.coli* с использованием SYBR Green ПЦР-РВ с праймерами, специфичными для локуса 16S рРНК *E.coli*. Контаминация не выявлена.

Уважаемый Пользователь!

Благодарим Вас за выбор продукта от АО «ГенТерра»!

Если у Вас есть рекомендация по улучшению данного продукта или пожелания по расширению нашей линейки продукции, мы будем Вам признательны если вы предоставите на обратную связь по адресу info@genterra.ru

