

EpiScript Reverse Transcriptase

200 U/μl, inklusive 10x Reaktionspuffer
Lucigen



Lucigen
Simplifying Genomics

<http://lucigen.com/epibio>

epicentre
an illumina company

10000 Units

Artikel-Nr.: 150780 | Lucigen | Hersteller-Nr.: ERT12910K

131,80 €*

*zzgl. MwSt. [zzgl. Versandkosten](#)

Beschreibung

Kit / Enzym: Enzym
Reaktionstemperatur: bis 55 °C
RNase H Aktivität: nein
Verpackung: 10000 Units

Anwendungen: Erststrang cDNA Synthese für nachfolgende PCR oder qPCR.

Die EpiScript™ Reverse Transcriptase (EpiScript RT), eine Alternative zur SuperScript® II Reverse Transcriptase, ist eine rekombinante MMLV Reverse Transkriptase mit verminderter RNase H Aktivität. Das Enzym zeigt eine deutlich höhere Aktivität als vergleichbare Reverse Transkriptasen und eignet sich hervorragend zur Herstellung von full-length cDNA. Bereits aus nur 50 pg Gesamt-RNA kann genügend cDNA für (q)PCR oder andere Analysen synthetisiert werden.

Lagerung: Bei -20°C

Lagerpuffer: 50% Glycerin-Lösung mit 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, und 0.1% Triton® X-100.

Unit Definition: Eine Unit EpiScript RT katalysiert den Einbau von 1 nmol dTTP in Säure unlösliches Material innerhalb von 10 Minuten bei 37°C bei einem oligo(dT)-geprimten poly(rA)-Template (im Überschuss)

Die EpiScript RT ist frei von detektierbarer Exonuclease, Endonuclease, und RNase Aktivität.

Abbildung 1: Die Performance der EpiScript™ Reverse Transkriptase in verschiedenen qPCR-Reaktionen ist genauso oder besser als die vergleichbarer Reverse Transkriptasen von anderen Anbietern.

Die Erststrang-Synthese erfolgte nach Angaben der Hersteller. Eingesetzt wurden 1 μg Jurkat Gesamt-RNA (Ambion®) und jeweils 50 ng Poly-T (16-18) DNA als Primer. Die Zweitstrang qPCRs wurden mit Bio-Rad iQ SYBR Mastermix und Gen-spezifischen Primer, die 250-350 bp Amplikons ergaben, durchgeführt. Die Reaktionen wurden 4-fach wiederholt. PDGF-R (Platelet Derived Growth Factor Receptor), TNF (Tumor-Nekrose-Faktor), IL-1B (Interleukin-1 beta), IL-2 (Interleukin 2). Foto mit freundlicher Genehmigung von Matthew Kellinger, Illumina® Inc.

Abbildung 2: EpiScript™ Reverse Transkriptase zeigt in Sequenzierreaktionen eine ähnliche Transkript-Coverage unabhängig von der Transkript Länge.

Die EpiScript Reverse Transkriptase wurde zur Erststrang-Synthese eingesetzt, mit

Oben: Gesamt RNA und Oligo dT Primern

Unten: PolyA+-RNA mit Radom Hexamer Primern

Die cDNA wurde in Illumina®-kompatible Bibliotheken umgewandelt und sequenziert.

Das Alignment der Reads zu den Transkripten erfolgte basierend auf den unterschiedlichen Längenklassen und der Read Density, aufgetragen gegen den Abstand zum 5'-Ende der Transkripte in Prozent, 0% bezieht sich auf das 5'-Ende und 100% ist das 3'-Ende. Wie erwartet, zeigt das Oligo-dT Priming ein stärkeren 3'-Bias als Random Priming.



Abbildung 3: Die Verwendung der EpiScript® Reversen Transkriptase für die cDNA-Synthese führt zu vergleichbaren Ergebnissen nach Kategorisierung der Sequenzierung unabhängig von der Menge des Eingangsmaterials.

EpiScript RT wurde zur Umschreibung von 5 ng und 50 pg menschlicher Gesamt RNA mit Random Primern verwendet. Aus der cDNA wurden Bibliotheken für Illumina® Sequenzierung hergestellt. Das Alignment der Reads erfolgte mit Tophat und die Annotierung mit Cufflinks. Die Zuordnung in unterschiedliche Kategorien in Prozent ist in einem Diagramm dargestellt. Für beide RNA-Eingangsmengen (5 ng und 50 pg) wurden gleiche Ergebnisse beobachtet.