

TGIRT-III Reverse Transcriptase 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述:

TGIRT-III RTnase 具有依赖于 DNA/RNA 杂交链的反转录酶活性，能快速合成 cDNA，该酶具有强的链转换活性 (Switch)。因此该酶可用于 tRNA、ncRNA、miRNA 等核酸分子的同时逆转录和加接头(TGIRT template-switching reaction, 用于 TGIRT-Seq)。TGIRT-III RTnase 具有极强的延伸性能，因此更易获得全长的 cDNA。除此外，该酶具有的强 switch 活性，使得可以利用 RNA 的 5'端帽结构进行 SMART 建库(SMRT-Seq)。该酶的反应温度为 37-60° C，最佳反应温度为 50° C。

组分

名称	1nmol
TGIRT-III RTnase (10 pmol/μl)	100 μl
5×TGIRT Buffer	1 ml
100mM DTT	0.5 ml

5×TGIRT Buffer: 100mM Tris-HCl, pH7.5, 2.25M NaCl,
25mM MgCl₂.

应用

链特异性转录组分析
全细胞或无细胞转录组测序
非编码 RNA 转录组测序
RIP-seq, HITS-CLIP, irCLIP and CRAC
通过高通量测序鉴定 RNA 碱基修饰
RNA 结构映射
长 cDNA 的合成
全基因组或靶向 RNA 结构分析

储存: -20° C 可保存 3 年。

典型的 TGIRT-Seq 反应

<u>5×TGIRT Buffer</u>	<u>4 μl</u>
<u>100mM DTT</u>	<u>2 μl</u>
<u>RNA</u>	<u>1-50ng</u>
<u>1μM of Annealed DNA/RNA duplex</u>	<u>2 μl</u>
<u>TGIRT-III RTnase (10 pmol/μl)</u>	<u>1 μl</u>
<u>RNase Free H₂O</u>	<u>Up to 17.5 μl</u>

室温孵育 30min 后，加入 2.5 μl 的 10mM dNTP 后，于 37-60° C（推荐温度为 50° C）条件下反应 5-60min（通常 15min）。

失活 反应结束后，向反应体系中加入 1 μl 的 5N NaOH，并置于 95° C 下加热 3min，失活该酶。失活后加入 5N HCl 中和高碱性条件。