天净沙系列

CAT#:230197

低温运输，-20℃保存

天净沙

TGIRT 逆转录酶，10 pmol/μL

TGIRT-III Reverse Transcriptase，10 pmol/μL

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品为浓度 10 pmol/μL 的 TGIRT 逆转录酶。TGIRT 逆转录酶可以用于 tRNA、ncRNA、miRNA 等核酸分子的同步逆转录和加接头、非编码 RNA 转录组测序等。它具有以下特点:

1. 具有依赖于 DNA/RNA 杂交链的反转录酶活性。
2. 具有极强的延伸性能，因此更易获得全长的 cDNA。
3. 本酶可以通过高通量测序鉴定 RNA 碱基修饰。
4. 本酶的反应温度为 37-55℃，最佳反应温度为 50℃。
5. 本酶具有的强链转换活性（Switch），使得可以利用 RNA 的 5′端帽结构进行 SMART 建库。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
TGIRT 逆转录酶，10 pmol/μL	230197a	50 μL×2	0.5 mL 紫盖管
5×逆转录酶 TGIRT 缓冲液	230197b	0.5 mL×2	1.5 mL 蓝盖管
100 mM DTT	230197c	100 μL×2	1.5 mL 红盖管
10×Duplex 缓冲液	230197d	0.5 mL×2	1.5 mL 蓝盖管
使用手册	230197sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备物品

无核糖核酸酶水，微量离心管，模板 RNA，RNase 抑制剂，dNTP 混合物，R1R2 comp DNA，R1R2 RNA，5 M 氢氧化钠，5 M 盐酸。

使用流程

以 Template-Switching 为例，其使用方法如下:

1. 制备 DNA/RNA 退火 Duplex:

成分	用量
10×Duplex 缓冲液	2 μL
10 μM R1R2 comp DNA	2 μL
10 μM R1R2 RNA	2 μL
无核糖核酸酶水	至 14 μL

2. 混合均匀后 82℃加热 2 分钟，然后逐步降温到 25℃。形成退火 DNA/RNA Duplex，在上述微量离心管中继续配制如下体系并轻轻混匀:

成分	用量

	5×逆转录酶 TGIRT 缓冲液 | 4 μL 100mM DTT | 1 μL 10 mM dNTP 混合物 | 2.5 μL RNase 抑制剂 | 1 μL 上述退火 DNA/RNA Duplex | 1 μL TGIRT 逆转录酶，10 pmol/μL | 1 μL 模板 RNA | ＜1 pmol 无核糖核酸酶水 | 至 20 μL 3. 混合均匀后 50℃反应 60 分钟。 4. 向反应体系中加入 1 μL 的 5 M 氢氧化钠，并于 95℃孵育 2 min（此处时间控制非常重要，过长时间的热变性可能会导致 cDNA 断裂损伤），孵育完毕后立即加入 1 μL 的 5 M 盐酸进行中和。
关联产品	200 U/μL MMLV 反转录酶