

## FIREScript® RT cDNA Synthesis KIT

N° de Catalogue	Réactions de 20 µl
06-15-0000S	20 rxn (échantillon)
06-15-00050	50
06-15-00200	200

Pour usage *in vitro* uniquement

### La description:

FIREScript® transcriptase inverse (RT) est une MMLV génétiquement modifiée (leucémie murine de Moloney Virus) sur la base de la transcriptase inverse. Celle-ci est une ARN - ADN polymérase qui est capable de synthétiser un brin d'ADN complémentaire de l'ARN sb ou ADNs b et est actif sur une large plage de températures de réaction de 37°C – 60°C. FIREScript® RT est une enzyme robuste pour la détection de l'ARN et possède une stabilité à température ambiante sans perte d'activité jusqu'à 1 mois. Cette RT contient un domaine RNase H fonctionnel qui peut augmenter la sensibilité de la RT - qPCR (quantitative reverse transcription PCR).

### La source:

Purifié à partir d'une souche *E. coli* qui porte un plasmide surproducteur contenant un gène de la transcriptase inverse FIREScript.

### Applications:

- Synthèse du premier brin d'ADNc
- RT-PCR
- RT-qPCR

### Réactifs fournis:

- **FIREScript® Reverse Transcriptase** (200 U/µl)
- **RiboGrip™ RNase inhibitor** (40 U/µl) (Inhibiteur de RNase)
- **10x RT Reaction Buffer with DTT** (10x Tampon de réaction RT avec DTT) 500 mM Tris-HCl pH 8,3, 500 mM KCl, 30 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM DTT
- **Oligo (dT) Primer** (100 µM) (amorces oligo dT)
- **Random Primers** (100 µM) (amorces aléatoires)
- **dNTP MIX** (20 mM of each)
- **Water, nuclease free** (Eau sans nuclease)

### Définition de l'unité:

Une unité est définie comme la quantité d'enzyme qui incorporera 1 nmol de dTTP dans un matériau précipitable à l'acide en 10 minutes à 37°C en utilisant du poly(rA)•oligo(dT) comme matrice dans un volume réactionnel total de 50 µl.

### Tampon de stockage et de dilution FIREScript:

50% de glycérol (v/v), 20 mM de Tris-HCl pH 7.5 à 25°C, 100 mM de KCl, 0.1 mM d'EDTA et des stabilisants.

### Conditions d'expédition et de stockage:

Stockage de routine: -20°C

Les conditions suivantes n'ont aucun effet néfaste sur la qualité des réactifs:

- Expédition et stockage temporaire à température ambiante jusqu'à 1 mois
- Le stockage à +4°C pendant 6 mois
- 30 cycles de gel-dégel

### Recommandations générales du protocole:

Pour les modèles de plus de 5 kb, il est recommandé d'effectuer une transcription inverse à 37°C pendant 30 min.

Pour les matrices avec une structure secondaire élevée ou des amorces spécifiques de gènes avec une température de fusion élevée, la température de transcription inverse peut être augmentée jusqu'à 60°C.

### Protocole rapide recommandé:

Décongeler et mélanger les composants de réaction suivants dans un tube de microcentrifugation sans nucléase.

Composant	Volume	Conc. finale (20 µl)
Matrice d'ARN	0.1 ng–5 µg	variable
Oligo(dT) Primer (100 µM)/ Random Primers (100 µM)/ amorce spécifique d'un gène	1 µl	5 µM 5 µM 0.1–1 µM
dNTP MIX (20 mM of each)	0.5 µl	500 µM
10x RT Reaction Buffer with DTT	2 µl	1x
FIREScript® RT	1 µl	10 U/µl
RiboGrip™ RNase Inhibitor (40 U/µl)	0.5 µl	1 U/µl
Eau sans nuclease	jusqu'à 20 µl	
<b>Volume total</b>	<b>20 µl</b>	

Utilisez le programme suivant pour la synthèse d'ADNc:

Étape	Température	Temps
Hybridation des amorces (UNIQUEMENT si vous utilisez des amorces aléatoires)	25°C	5–10 min
Transcription inversée	37–60°C	15–30 min
Inactivation enzymatique	85°C	5 min

Le volume d'ADNc ne doit pas dépasser 1/10 du volume de réaction PCR ou qPCR suivant.

Voir protocole standard page 2...

**Protocole standard recommandé:**

Décongeler et mélanger les composants suivants dans un tube de microcentrifugation sans nucléase.

Composant	Volume	Conc. finale (20 µl)
Matrice d'ARN	0.1 ng–5 µg	variable
Oligo(dT) primer (100 µM)/ random primers (100 µM)/ amorce spécifique d'un gène	1 µl	5 µM 5 µM 0.1–1 µM
Eau sans nuclease	jusqu'à 16 µl	
<b>Volume total</b>	<b>16 µl</b>	

Incuber l'ARN matrice et la composition d'amorce à 65°C pendant 5 min, puis placer sur la glace.

Après une courte centrifugation, ajoutez les composants suivants.

Composant	Volume	Conc. finale (20 µl)
10x RT Reaction Buffer with DTT	2 µl	1x
dNTP MIX (20 mM of each)	0.5 µl	500 µM
FIREScript RT	1 µl	10 U/µl
RiboGrip RNase Inhibitor (40 U/µl)	0.5 µl	1 U/µl
<b>Volume total</b>	<b>20 µl</b>	

Utilisez le programme suivant pour la synthèse d'ADNc:

Étape	Température	Temps
Hybridation des amorces (UNIQUEMENT si vous utilisez des amorces aléatoires)	25°C	5–10 min
Transcription inversée	37–60°C	15–30 min
Inactivation enzymatique	85°C	5 min

DS-06-15 v2.1\_FR

Date de révision: 17.11.2021

Ceci est une traduction, la version originale, en anglais, est disponible sur le site [www.solisbiodyne.com](http://www.solisbiodyne.com)

**Utilisation autorisée:** ce produit est fourni à des fins de recherche uniquement (l'utilisation autorisée). Si le client souhaite utiliser le produit à d'autres fins que l'utilisation autorisée, y compris (sans limitation) la revente ou la modification, le client doit obtenir la licence appropriée de Solis BioDyne. Certaines applications de ce produit peuvent nécessiter une licence/des licences d'un ou plusieurs tiers qui ne sont pas fournies par l'achat de ce produit. Les utilisateurs doivent obtenir la licence si nécessaire. Couvert par le brevet EP2501716, fabriqué selon les méthodes du brevet américain n° 9 321 999.

**Informations sur la marque:** FIREScript® est une marque déposée dans l'UE de Solis BioDyne OÜ. RiboGrip™ est une marque déposée de Solis BioDyne OÜ.

**Garantie et avis de non-responsabilité:** ce produit doit être conforme à ses spécifications pertinentes et être adapté à son objectif déclaré, mais Solis BioDyne ne donne aucune autre garantie et ne fait aucune déclaration quant à la description ou à la qualité. Une telle garantie ou représentation est exclue, dans toute la mesure permise par la loi. En particulier, mais sans limiter ce qui précède, Solis BioDyne ne sera pas responsable de la non-conformité du produit à ses spécifications pertinentes lorsqu'une telle défaillance résulte de: (i) la négligence du client ou parce que le client n'a pas suivi l'un des les données techniques ou les fiches de sécurité applicables, les documents d'utilisation standard, les directives d'utilisation ou toute autre information fournie par Solis BioDyne concernant le stockage, le transport, la manipulation, l'utilisation ou la maintenance des produits ou d'autres bonnes pratiques les concernant, ou (ii) la client modifiant les produits de quelque manière que ce soit sans le consentement écrit préalable de Solis BioDyne, ou (iii) les produits différant des spécifications pertinentes en raison de modifications apportées pour assurer leur conformité aux exigences légales ou réglementaires applicables.

Rien ne limitera ou n'exclura la responsabilité de Solis BioDyne en cas de décès ou de blessures corporelles causés par sa négligence, sa fraude ou une fausse déclaration frauduleuse ou toute question pour laquelle il serait illégal pour Solis BioDyne d'exclure ou de restreindre la responsabilité. Sans limiter ce qui précède, Solis BioDyne ne sera en aucun cas responsable envers le client, que ce soit contractuellement, délictuelle (y compris la négligence), manquement à une obligation légale ou autre, pour toute perte de profit, ou toute perte indirecte ou consécutive résultant de ou en relation avec les produits et la responsabilité totale de Solis BioDyne envers le client à l'égard de toutes les autres pertes résultant de ou en relation avec le produit, que ce soit dans le cadre d'un contrat, d'un délit (y compris la négligence), d'un manquement à une obligation légale ou autre, ne doit en aucun cas circonstances dépassent le prix des produits fournis pour lesquels la responsabilité est née.

Le volume d'ADNc ne doit pas dépasser 1/10 du volume de réaction PCR ou qPCR suivant.

**POUR LA RECHERCHE UNIQUEMENT. NE PAS UTILISER DANS LES PROCÉDURES DE DIAGNOSTIC.**

Manufactured by Solis BioDyne in compliance with the ISO 9001 and ISO 13485 certified Quality Management System.

**Avertissements et précautions de sécurité:**

Ce produit et ses composants ne doivent être manipulés que par des personnes formées aux techniques de laboratoire. Il est conseillé de porter des vêtements de protection appropriés, tels que des combinaisons de laboratoire, des gants et des lunettes de sécurité. Des précautions doivent être prises pour éviter tout contact avec la peau ou les yeux. En cas de contact avec la peau ou les yeux, laver immédiatement à l'eau. Se référer à la fiche de données de sécurité pour plus d'informations.

**Technical support:**

Contactez votre commercial pour toute question ou envoyez un email à [support@solisbiodyne.com](mailto:support@solisbiodyne.com)

Le chat en ligne est disponible sur [www.solisbiodyne.com](http://www.solisbiodyne.com)