

YALEPIC[®] Script X 第一链 cDNA 合成试剂盒

YALEPIC[®] Script X 1st Strand cDNA Synthesis Kit

产品货号: YPM71002

产品保存及运输条件

-20°C 保存, < 0°C 运输。

产品概述

YALEPIC[®] Script X 1st Strand cDNA Synthesis Kit 是一款高性价比的 cDNA 第一链合成试剂盒, 包含 YALEPIC[®] Script X Reverse Transcriptase、RNA 酶抑制剂、dNTPs、Oligo(dT)₂₀、随机引物, 及各种缓冲组分, 各组分独立提供, 可以根据实验需求进行灵活的调配。YALEPIC[®] Script X Reverse Transcriptase 是在 M-MLV (RNase H-) Reverse Transcriptase 基础上改造的全新逆转录酶。大幅提高了热稳定性, 非常适合具有复杂二级结构的 RNA 模板的逆转录, 进一步增强了模板亲和力和行进性, 对于常见的逆转录抑制物具有更高的耐受度, 可合成具有高均一性的全长 cDNA (可达 15 kb)。产物适用于后续的 2nd Strand cDNA 合成 (文库构建)、杂交、PCR/qPCR 扩增等实验。

产品组分

序号	产品组分	100 rxns (20 μl 体系)
①	YALEPIC [®] Script X Reverse Transcriptase (200 U/μl)	100 μl (100 rxns)
②	5 × 1st Strand Synthesis Buffer	500 μl
③	0.1 M DTT	100 μl
④	dNTP mix (10 mM each)	250 μl
⑤	Oligo(dT) ₂₀ (50 μM)	100 μl
⑥	Random Primer (50 ng/μl)	100 μl
⑦	Nuclease-Free ddH ₂ O	2 × 1 ml

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物 RNA 的逆转录反应

实验流程

● 第一链 cDNA 合成反应

1. 第一链 cDNA 合成反应液配制 (使用前充分混匀) :

组分	用量
YALEPIC [®] Script X Reverse Transcriptase (200 U/μl)	1 μl
模板 RNA*	200 pg-2 μg
5 × YALEPIC [®] Script RT Reaction Mix	4 μl
0.1 M DTT	0-1 μl ^a
dNTP mix (10 mM each)	2.5 μl ^a
Random Primer (50 ng/μl)	1 μl ^a
Oligo(dT) ₂₀ (50 μM)	1 μl ^a
Nuclease-Free ddH ₂ O	Up to 20 μl

*推荐采用去除 gDNA 的 RNA 作为模板, 2 μg 以内。

a 可根据使用需求进行调整。

1. 轻柔吹打混匀后, 短暂离心;
2. 若使用 Oligo(dT)₂₀ VN 或 Gene Specific Primer, 50°C 温育 30 min;
3. 若使用随机引物, 先 25°C 温育 5 min, 再 50°C 温育 30 min; (注: 若目的 cDNA < 3 kb, 温育时间可缩短为 15 min)
4. 反应结束后, 85°C 温育 5 min 以终止反应;
5. 将获得的 cDNA 迅速置于冰上, 用于后续实验, 或立即置于 -20°C 保存。

注意事项:

1. 请保持实验区域洁净, 实验过程中使用的耗材及仪器等需确保 Nuclease-free, 操作时需穿戴干净的手套、口罩;
2. 由于产品组分中均含有甘油, 建议使用前轻弹管壁, 再短暂离心以收集到管底, 准确吸取;
3. 在逆转录反应体系中建议加入适量的 RNA 模板, 可根据表达基因产物的多少略微调整, 如果加入 RNA 量过高, 可能会超出后续 qPCR 的线性范围;
4. 试剂盒预混液中包含比例优化的 Oligo(dT)₂₀ 和随机引物, 不仅适用于包含 Poly (A) 结构的真核生物 mRNA 也适用于原核生物 mRNA, 真核生物 rRNA、tRNA 等, 但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板;
5. 如果要使用 Gene Specific Primer 进行反转录反应, 则无需加入 Oligo(dT)₂₀ 和随机引物;
6. 5 × 1st Strand Synthesis Buffer 在使用前需要短暂离心, 由于黏稠度高, 应充分融化充分混匀。