

YALEPIC® 一步 gDNA 去除及第一链 cDNA 合成试剂盒

YALEPIC® One-Step gDNA Off and 1st Strand cDNA Synthesis Kit

产品货号: YPM51311

产品保存及运输条件:

-20°C 保存, < 0°C 运输。

产品概述

YALEPIC® One-Step gDNA Off and 1st Strand cDNA Synthesis Kit 是第一链 cDNA 合成及 gDNA 去除的逆转录试剂盒。YALEPIC® Script RT MasterMix 含有新一代逆转录酶 YALEPIC® Script Reverse Transcriptase 和优化的逆转录缓冲液, 具有无 RNase H 活性、热稳定性高等优点, 非常适合具有复杂二级结构 RNA 模板的逆转录实验, 可在 50 ~ 60°C (55°C 最佳) 条件下合成 ≤ 15 kb 的第一链 cDNA。预混的新型 dsDNase 能够特异性去除双链 DNA, 可在 55°C 快速失活, 实现去除 gDNA 污染与逆转录反应同步进行。试剂盒中包含单组分逆转录引物 Oligo(dT)₂₀ 和 Random Hexamers, 可灵活选择逆转录引物进行后续实验。合成的第一链 cDNA 适用于 RT-PCR、RT-qPCR, 基因表达的高效分析等。

产品组分

序号	产品组分	100 rxns (20 µl 体系)
①	YALEPIC® Script RT MasterMix	300 µl
②	5 × YALEPIC® Script RT Reaction Mix	400 µl
③	Oligo(dT) ₂₀ Primer (100 µM)	100 µl
④	Random Hexamer Primer (100 µM)	100 µl
⑤	Nuclease-Free ddH ₂ O	2 × 1 ml

适用范围

第一链 cDNA 合成、文库构建、RT-PCR、RT-qPCR 检测等实验。

自备试剂及仪器

特异性引物 (如有需要); RNA 模板; Nuclease-free 离心管; PCR 仪或水浴锅。

实验流程

1. 在 PCR 管中加入以下成分，制成 **RNA-Primer Mix**。

组分	用量
100 μM Oligo(dT)₂₀ Primer 和 100 μM Random Primer (各 0.5 μl)	
或 100 μ M Oligo(dT) ₂₀ Primer (1 μ l)	1 μ l
或 100 μ M Random Primer (1 μ l)	
或 10 μ M Gene-specific Reverse Primer (1 μ l)	
10 pg ~ 5 μ g Total RNA or 10 pg~500 ng mRNA	As Required
Nuclease-Free ddH ₂ O	Up to 13 μ l

2. 可选步骤：轻柔吹打混匀后，短暂离心；65°C 处理 5 min，立即置于冰上放置 2 min。（该步骤可显著提高逆转录效率、提升 cDNA 合成的片段长度及完整度，可选择进行。）

3. 继续在上述 PCR 管中加入以下成分配制反应体系：

组分	用量
YALEPIC [®] Script RT MasterMix	3 μ l
5 × YALEPIC [®] Script RT Reaction Mix	4 μ l

4. 轻柔吹打混匀后，短暂离心；

5. 第一链 cDNA 合成：

- 1) 如含有 Oligo(dT)₂₀Primer 或 Gene-specific Reverse Primer, 55°C 温育 15 min, 85°C 温育 5 min 终止反应；
 - 2) 如含有 Random Hexamer Primer, 25°C 温育 10 min, 55°C 温育 15 min, 85°C 温育 5min 终止反应；
6. 将获得的 cDNA 置于冰上，稀释后用于后续实验，或立即置于 -20°C 保存，避免反复冻融。

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 RNase-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。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断