

# YALEPIC®一步法第一链 cDNA 合成试剂盒 (gDNA off) YALEPIC® One-Step 1st Strand cDNA Synthesis Kit (gDNA Off)

**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 1st Strand cDNA Synthesis Kit (gDNA Off)** 是一步法第一链 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 ≤8 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)<sub>20</sub> 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) <sub>20</sub> Primer (100 µM) | 100 µl              |
| ④  | Random Hexamer Primer (100 µM)          | 100 µl              |
| ⑤  | Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> 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               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| <b>100 <math>\mu</math>M Oligo(dT)<sub>20</sub> Primer 和 100 <math>\mu</math>M Random Primer (各 0.5 <math>\mu</math>l)</b> |                  |
| 或 100 $\mu$ M Oligo(dT) <sub>20</sub> Primer (1 $\mu$ l)                                                                   | 1 $\mu$ l        |
| 或 100 $\mu$ M Random Primer (1 $\mu$ l)                                                                                    |                  |
| 或 10 $\mu$ M Gene-specific Reverse Primer (1 $\mu$ l)                                                                      |                  |
| 10 pg ~ 1 $\mu$ g Total RNA or 10 pg~500 ng mRNA                                                                           | As Required      |
| Nuclease-Free ddH <sub>2</sub> O                                                                                           | Up to 13 $\mu$ 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 <sup>®</sup> Script RT MasterMix        | 3 $\mu$ l |
| 5 × YALEPIC <sup>®</sup> Script RT Reaction Mix | 4 $\mu$ 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)<sub>20</sub> Primer 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 5 min 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