

cDNA第一链合成试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.0.0.1)

产品说明

1st Strand cDNA Synthesis Kit (cDNA第一链合成试剂盒) 包含M-MLV (H-) Reverse Transcriptase、反应缓冲液及合成第一链cDNA所需的全部组分, 可用于一般的以总RNA或mRNA为模板的第一链cDNA合成, 也可与模板置换寡核苷酸 (TSO) 搭配, 用于3' 端含有已知序列的第一链cDNA合成。产物后续可进行PCR或qPCR反应, 也可作为5' RACE (cDNA末端快速扩增) 或第二链cDNA合成的模板。

产品货号:

JSR-E-501-20 (20次反应) JSR-E-501-50 (50次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份.....	1
储存条件.....	1
来 源.....	1
活性单位.....	1
浓 度.....	1
用 途.....	1
实验流程.....	2
第一链合成的引物退火	2
配制第一链cDNA合成反应液	2
按下列条件进行第一链cDNA合成反应	2

产品组份

试剂盒组成	JSR-E-501-20	JSR-E-501-50
M-MLV (H-) Reverse Transcriptase (200U/μl)	20μl	50μl
4 x First-Strand Buffer	200μl	200μl
dNTPs (10mM each)	20μl	50μl
Oligo (dT) 18VN (50μM)	20μl	50μl
Nuclease-free Water	1ml	1ml

储存条件

该试剂盒请置于-25~-15℃保存。

来源

重组E.coli菌株，携带有从M-MLV中克隆的改良后的反转录酶基因。

活性单位

以Poly (rA) · Oligo (dT) 为模板/引物，在37℃，10min条件下，掺入1nmol的dTTP为酸不溶性物质所需要的酶量定义为1个活性单位 (U)。

浓度

200units/μL

用途

1. cDNA第一链的合成。
2. RT-PCR反应以及 Real Time RT-PCR反应。

实验流程

1. 第一链合成的引物退火

配制如下混合液：

组分	体积	终浓度
Total RNA/mRNA	0.1-2 μ l	2pg-200ng
Oligo (dT) 18VN (50 μ M) 或 Random Primers (50ng/ μ) 或 Specific Primer (10 μ M)	1 μ l	1 μ M
dNTPs (10mM each)	1 μ l	1mM
Nuclease-free Water	Up to 6 μ l	-

用移液器轻轻吸打10次，短暂离心，将溶液收集至底部。70°C加热5min，热盖温度 \geq 85°C，迅速置于冰上骤冷，并在冰上静置2min。

2. 配制第一链cDNA合成反应液

组分	体积	终浓度
上一步的混合液	6 μ l	
4 x First-Strand Buffer	2.5 μ l	1X
Template Switching Oligo (75 μ M)	0.5 μ l	3.75 μ M
M-MLV (H-) Reverse Transcriptase (200U/ μ l)	1 μ l	1X

用移液器轻轻吸打10次，短暂离心，将溶液收集至底部。

3. 按下列条件进行第一链cDNA合成反应

42°C	90min
85°C	5min
4°C	Hold

产物可立即用于PCR或qPCR反应，或在-20°C保存，并在半年内使用；长期存放建议分装在-70°C保存。cDNA应避免反复冻融。