

YALEPIC[®] All-in-Mix 示踪 cDNA 第一链合成试剂盒 (gDNA off) YALEPIC[®] All-in-Mix Red 1st Strand cDNA Synthesis Kit(gDNA off)

产品货号

YPM51722

产品保存及运输条件

-20°C 保存两年, < 0°C 运输。

产品概述

YALEPIC[®] All-in-Mix Red 1st Strand cDNA Synthesis Kit(gDNA off)是第一链 cDNA 合成及 gDNA 去除的逆转录试剂盒, 带有红色示踪染料。该试剂盒含有新一代逆转录酶 YALEPIC[®] Script Reverse Transcriptase 和优化的逆转录缓冲液, 适合常规以及具有复杂二级结构 RNA 模板的逆转录反应。具有逆转录能力强 (合成较多全长 cDNA, 长度可达 15 kb)、无 RNase H 活性、热稳定性高等优点。该产品具有蓝色示踪效果, 只需加入模板 RNA 和水即可迅速进行反应, 合成的第一链 cDNA 适用于 RT-PCR、RT-qPCR, 可进行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	4 × YALEPIC [®] Script RT Red MasterMix	500 µl
②	dsDNase RT Enhancer Mix	100 µl
③	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

模板; 引物; Nuclease-free 离心管; PCR 仪或水浴锅。

实验流程

● cDNA 第一链合成反应

1. cDNA 第一链合成反应液配制 (使用前充分混匀) :

组分	用量
10 pg ~ 1 μg Total RNA or 10 pg ~ 500 ng mRNA	As Required
4 × YALEPIC [®] Script RT Red MasterMix	5 μl
dsDNase RT Enhancer Mix	1 μl
Nuclease-Free H ₂ O	Up to 20 μl

2. 轻柔吹打混匀后, 短暂离心;

3. 25°C 温育 10 min ^{注①};

4. 55°C 温育 15 min;

5. 85°C 温育 5 min ^{注②};

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①: 该步骤除随机引物与 RNA 模板配对外, 对于 gDNA 的去除有至关重要的作用。若上游实验提取 RNA 过程中去除 gDNA 非常干净, 且下游实验为 qPCR 时, 该步骤可省略。否则为了实验的严谨性, 不建议省略此步骤。

注②: 该逆转录酶有较强的酶活, 完全灭活逆转录酶有利于下游 PCR 实验不会受到抑制。

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。
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。