

一步法 cDNA 第一链快速合成试剂盒 (去基因组) _升级版

Yfxbio® All-in-One 1st Strand cDNA Synthesis Kit(gDNA Eraser)_Plus

产品名称

使用前充分混匀, -20℃稳定储存 24 个月, 避免反复冻融。

产品编号	产品名称	产品规格
YFXM0010	一步法 cDNA 第一链快速合成试剂盒 (去基因组) _升级版 Yfxbio® All-in-One 1st Strand cDNA synthesis Kit(gDNA Eraser) _Plus	100T

产品包装

试剂盒成分	规格
4×gDNA Removal Mix	500μL
Yfxbio® 4× Supreme-Enzyme Mix	500μL
Nuclease-Free Water	1mL

产品简介

翼飞雪一步法 cDNA 第一链快速合成试剂盒 (去基因组) _升级版一步法 cDNA 第一链快速合成试剂盒 (去基因组) (货号 YFXM0009) 的基础上, 升级了反转录酶的能力, 合成的 cDNA 不仅可以应用于 RT-qPCR 扩增, 也可以应用 PCR 扩增、cDNA 文库构建。

5×Reaction Mix 中包含逆转录反应所需要的缓冲液、dNTPs、优化的逆转录引物。

Yfxbio® Supreme-Enzyme Mix 中包含新一代的 Yfxbio® 反转录酶、Ribonuclease Inhibitor、ds DNase, 以简化加样步骤。

新一代 Yfxbio® 反转录酶的特点包括: 高热稳定性, 反应温度为 42-55℃, 有助于打开 RNA 二级结构; 逆转录能力强, 可合成较多全长 cDNA, 合成的 cDNA 最长可达 15kb; 无 RNase H 活性, 避免第一链 cDNA 合成过程中 DNA/RNA 杂交体中模版 RNA 被降解, 从而保证第一链 cDNA 的合成量和长度。

ds DNase 能够有效去除双链 DNA、而不消化 RNA 样品、反转录引物、以及合成的 cdNA; 同时 ds DNase 具有热敏感性, 可在 55℃ 快速不可逆失活, 实现去基因组 DNA 和 cDNA 合成的同时进行。

使用本试剂盒反转录合成的 cDNA 不仅可推荐用于 qPCR, 也推荐用于普通 PCR 扩增、cDNA 文库构建等。

注意事项

- 1、实验过程中避免 RNase 污染。
- 2、各成分使用前请短暂离心, 然后用移液器轻轻吹打充分混匀。
- 3、85℃ 5min 为逆转录酶灭活步骤 (推荐程序)。
- 4、反转录的 cDNA 产物原液可直接作为 PCR 反应的模板, 但由于反转录酶对于 PCR 反应有抑制作用因此建议 cDNA 产物使用体积不超过 PCR 反应体系的 1/10。

使用方法

1、在 RNase-Free 离心管中配置如下反应体系, 轻轻混匀, 瞬时离心, 使液体全部离心至离心管底部:

组分	添加量
RNA 模板	10pg-1 μ g Total RNA 或 10pg-500ng mRNA
4 \times gDNA Removal Mix (使用前充分混匀)	5 μ L
Yfxbio® 4 \times Supreme-Enzyme Mix	5 μ L
Nuclease-Free Water	补足至 20 μ L

2、按照下述条件进行第一链 cDNA 合成反应 (推荐程序) :

反应温度	反应时间	反应说明
37 $^{\circ}$ C	5min	去除残留基因组 DNA
55 $^{\circ}$ C	15min	cDNA 合成
85 $^{\circ}$ C	30s	酶失活

3、反应产物经适当稀释后, 取 1-2 μ L 反应液直接用于后续 PCR 反应 (反应体系为 20 μ L), 或在 -20 $^{\circ}$ C 保存、并于半年内使用, 长期储存需分装后 -70 $^{\circ}$ C 保存, 避免反复冻融。

使用方法

1、因为反转录酶对 PCR 有抑制作用, 因此用于 PCR 反应的 cDNA 产物体积建议不超过 PCR 反应体积的 1/10, 建议将 cDNA 稀释 5-10 倍后用于定量检测。

2、整个实验过程中佩戴一次性口罩和手套, 使用的吸头、塑料制品必需用 RNase-Free 级别。