

cDNA第一链合成试剂盒

20T WLA101a 50T WLA101b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 cDNA第一链合成试剂盒

产品概述 RT-PCR反应就是从RNA反转录至cDNA,然后通过PCR反应扩增至cDNA的过程。本试剂盒适用于各种动、植物、病毒RNA反转录产生cDNA第一链。包含了进行cDNA第一链合成所需的各种试剂,RT反应体系为20 μ L。本产品可以完成长度为8kb及以下基因的反转录,反转录的最大长度可以超过10kb。如果模板RNA的GC含量较高或者有比较严重的二级结构,可以65 $^{\circ}$ C孵育5min,随后立即置于冰上冷却,以打开RNA中一些比较稳定的二级结构。后续可以用于PCR、real-time PCR、cDNA的第二链合成以及cDNA文库的构建等。

包装信息

| 试剂名称 | WLA101a (20T) | WLA101b (50T) |
|--------------------------------------|---------------|---------------|
| Oligo(dT) ₁₅ (10 μ M) | 20 μ L | 50 μ L |
| 随机引物 (10 μ M) | 20 μ L | 50 μ L |
| dNTPs (10mM) | 40 μ L | 100 μ L |
| M-MLV (200U/ μ L) | 20 μ L | 50 μ L |
| RNase 抑制剂 (40U/ μ L) | 10 μ L | 25 μ L |
| 5 x M-MLV Buffer | 80 μ L | 200 μ L |
| Rnase Free ddH ₂ O | 0.5 mL | 1 mL |

保存条件 所有试剂均保存在-20 $^{\circ}$ C,有效期一年。

注意事项 1. 客户需自备RNA、无核酸酶双蒸水、经DEPC水处理并灭菌的枪头、离心管等等。
2. 整个实验操作过程均在冰上进行。

操作流程 1. 使用前将每个组份轻轻混匀,然后2000rpm离心20s。

2. 取灭过菌且无核酸酶的0.2ml PCR管,依次加入以下试剂:

| 试剂名称 | 体积 |
|--------------------------------------|--------------|
| 1-5 μ g RNA | n μ L |
| Oligo(dT) ₁₅ (10 μ M) | 1 μ L |
| 随机引物 (50ng/ μ L) | 1 μ L |
| 无核酸酶的双蒸水至总体积 | 12.5 μ L |

70 $^{\circ}$ C保温5min,然后冰浴5min。

3. 往步骤2中的0.2ml PCR管依次加入下列组份:

| 试剂名称 | 体积 |
|--------------------------|-------------|
| RNase 抑制剂 (40U/ μ L) | 0.5 μ L |
| 5 x M-MLV Buffer | 4 μ L |
| M-MLV (200U/ μ L) | 1 μ L |
| dNTPs (10mM) | 2 μ L |

4. 轻轻混匀后,2000rpm离心20s,25 $^{\circ}$ C保温10min。

5. 先在42 $^{\circ}$ C保温50min,然后80 $^{\circ}$ C保温10min。

6. 上述产物可立即进行下一步的PCR反应或-20 $^{\circ}$ C保存。