

天
净
沙
系
列

CAT#:130308-10
低温运输, -20°C保存

TIANDZ

一管式双链 cDNA 合成试剂盒

One-Tube ds-cDNA Synthesis Kit

使用手册 V1.1

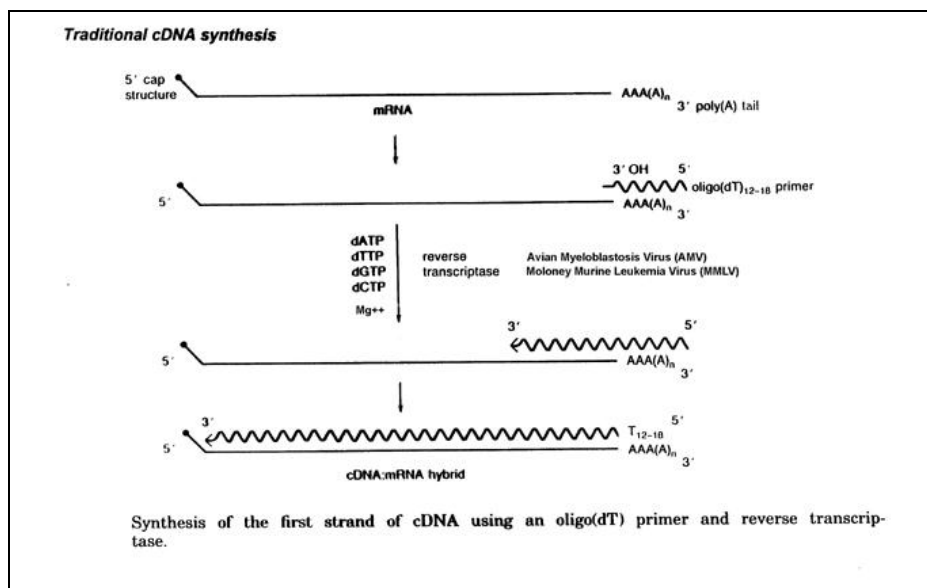
北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

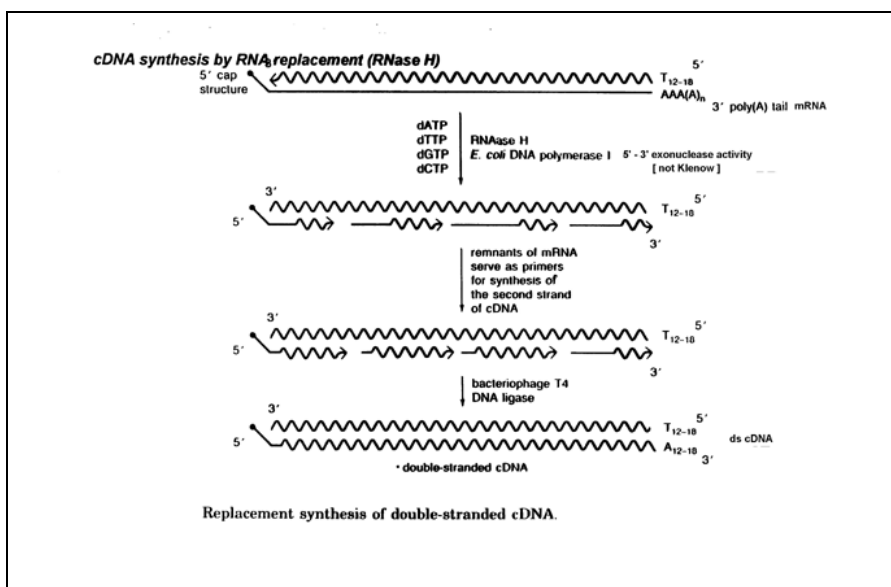
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

本产品是用于一管式双链 cDNA 合成的试剂盒。cDNA 第一链合成的原理是以 Oligo dT 为通用引物的、MMLV 催化的逆转录反应。其原理如下：



cDNA 第二链合成的原理是用 RNase H 使 RNA-DNA 杂合链中的 RNA 产生切口，再用 DNA Polymerase I 通过切口平移(nick translation)反应进行 RNA 链取代合成 cDNA 第二链，其原理图如下：



本产品具有下列特点：

1. 即开即用，含有合成两条 cDNA 链的所有试剂。
2. 一管式进行，第一链 cDNA 合成后不需要任何处理，直接进入第二链的合成。
3. 所得双链 cDNA 可以直接用于后续的常规 PCR、real-time PCR、cDNA 文库构建、抑制性差减杂交等。
4. 本试剂盒足够 10 次 80uL 体系的双链 cDNA 合成反应。

规格及成分

成份	编号	十孔盒包装
Oligo dT 引物 (0.5ug/uL)	100814	10 uL (白盖)

	cDNA 一链合成缓冲液	130308A	40 uL (紫色)
	MMLV 逆转录酶	60905	10 uL (绿色)
	5×cDNA 二链合成缓冲液	130308b	160 uL (红色)
	20×cDNA 二链合成酶混合液	130308c	40 uL (蓝色)
	0.2 M EDTA 溶液	130309	40 uL (黄色)
	超纯水	100935	1 mL (本色)
	使用手册	130308sc	1 份

运输及保存 低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂 mRNA 提取试剂盒

使用方法 一：mRNA 的制备

本试剂盒不提供 mRNA 提取试剂，用户需自备相关试剂。

二：双链 cDNA 的合成

1. 在一个干净的塑料离心管中，按下表设置 cDNA 合成反应：

成分	用量
自备样品 mRNA	4 uL (0.5-2ug)
Oligo dT 引物 (0.5ug/uL)	1 uL
70℃ 2 分钟后室温放置 2 分钟，短暂离心	
cDNA 一链合成缓冲液	4 uL
MMLV 逆转录酶	1 uL
轻柔吹打混匀后 42℃保温 90 分钟合成第一链 cDNA	
超纯水	48 uL
5×cDNA 二链合成缓冲液	16 uL
20×cDNA 二链合成酶混合液	4 uL
轻柔吹打混匀后，短暂离心，16℃保温 2 小时	
如果需要将双链 cDNA 平末端化，则需加自备 T4 DNA 聚合酶 2 uL，轻柔吹打混匀后，16℃继续保温 30 分钟。如果不需要将 cDNA 平末端化，则直接进入下一步。	
0.2M EDTA 溶液	4 uL

2. 电泳 5uL 检测 cDNA 质量。如果 cDNA 在 0.5-10Kb 的范围内呈模糊一片，则 cDNA 合格。如果没看见 cDNA 或有其他异常，需查找原因后再继续。

3. 所得 cDNA 可以直接用于后续的常规 PCR、real-time PCR、cDNA 文

	库构建、抑制性差减杂交等实验。
关联产品	SMART cDNA 合成试剂盒