

天
净
沙
系
列

CAT#:131005-30
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

cDNA 第二链合成试剂盒

Second Strand cDNA Synthesis Kit

使用手册 V1.2

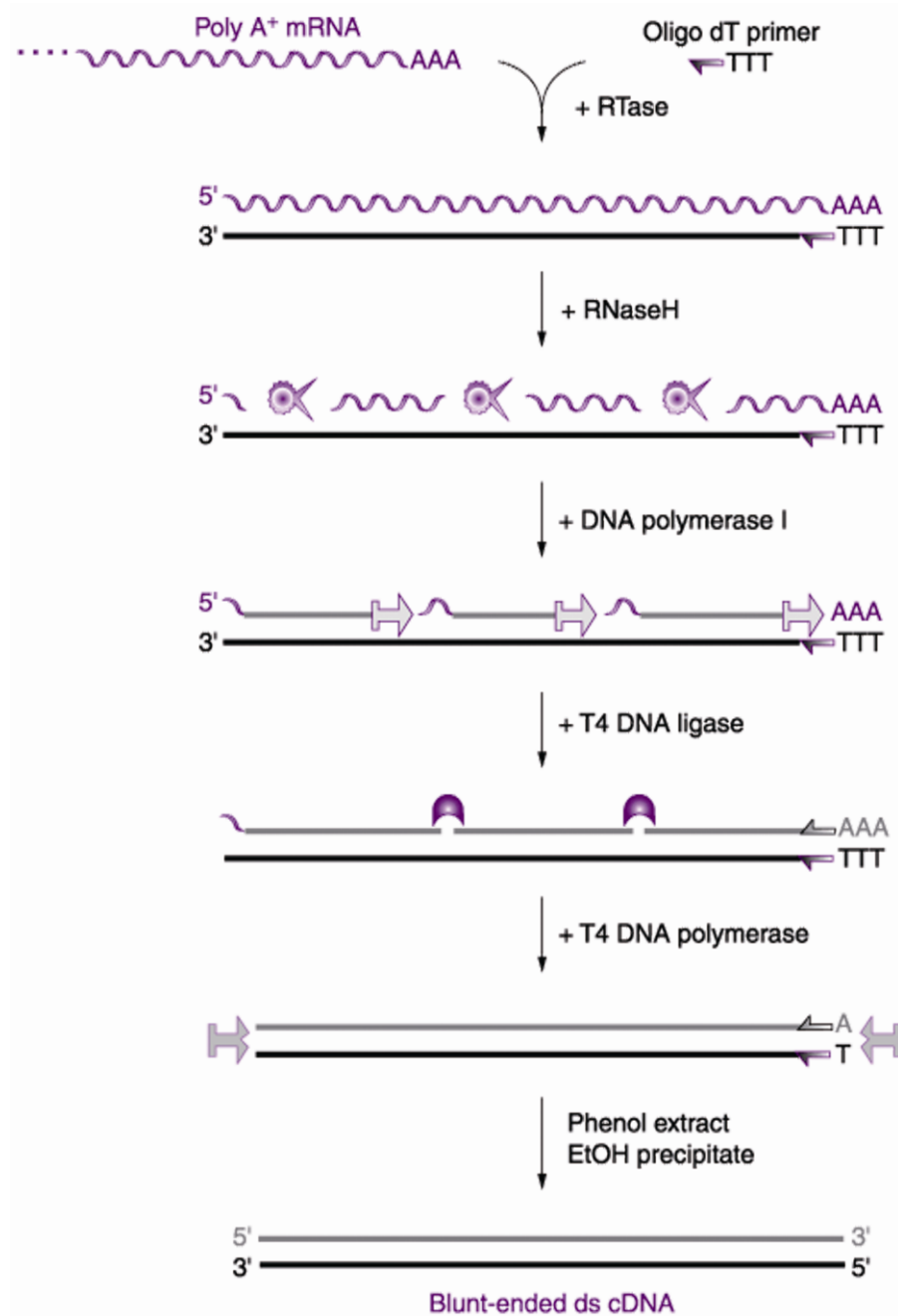
北京天恩泽基因科技有限公司

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

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，其示意图如下：



本产品具有下列特点：

1. 即开即用,含有合成 cDNA 第二链的所有试剂(包括 RNase H、E.coli DNA 聚合酶 1 和 DNA ligase)。
2. 一管式操作,不需要每次进行纯化,不丢失宝贵的样品。
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 30 次 80uL 体系的 cDNA 第二链合成反应。

规格及成分	成分	编号	十孔盒包装															
	5×cDNA 第二链合成缓冲液	131005a	250 μL															
	20×cDNA 第二链合成酶混合液	131005b	60 μL															
	0.5 M EDTA 溶液	130309	60 μL															
	超纯水	100935	1 mL															
	使用手册	131005sc	1 份															
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。																	
自备试剂	cDNA 第一链合成试剂等																	
使用方法	一、合成 cDNA 第一条链 本试剂盒不提供 cDNA 第一链合成试剂，用户需自备相关试剂合成 cDNA 第一链。																	
	二、合成 cDNA 第二链 1. 在冰浴上向 5uL 已经完成 cDNA 第一条链合成的反应体系（逆转录体系）中依次加入下表试剂，如果多于 5uL，请只取用 5uL： <table border="1" data-bbox="600 1115 1362 1626" style="margin-left: 40px;"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>用量</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>超纯水</td> <td>25 μL</td> </tr> <tr> <td>cDNA 第二链合成缓冲液</td> <td>8 μL</td> </tr> <tr> <td>cDNA 第二链合成酶混合液</td> <td>2 μL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">共 40uL，轻柔吹打混匀后，短暂离心，16℃保温 2 小时</td> </tr> <tr> <td>自备的 T4 DNA 聚合酶（见注）</td> <td>1 μL</td> </tr> <tr> <td colspan="2">轻柔吹打混匀后，16℃继续保温 30 分钟</td> </tr> <tr> <td>0.2M EDTA 溶液</td> <td>2 μL</td> </tr> </tbody> </table>			成分	用量	超纯水	25 μL	cDNA 第二链合成缓冲液	8 μL	cDNA 第二链合成酶混合液	2 μL	共 40uL，轻柔吹打混匀后，短暂离心，16℃保温 2 小时		自备的 T4 DNA 聚合酶（见注）	1 μL	轻柔吹打混匀后，16℃继续保温 30 分钟		0.2M EDTA 溶液
成分	用量																	
超纯水	25 μL																	
cDNA 第二链合成缓冲液	8 μL																	
cDNA 第二链合成酶混合液	2 μL																	
共 40uL，轻柔吹打混匀后，短暂离心，16℃保温 2 小时																		
自备的 T4 DNA 聚合酶（见注）	1 μL																	
轻柔吹打混匀后，16℃继续保温 30 分钟																		
0.2M EDTA 溶液	2 μL																	
注：克隆双链 cDNA 一般需要平末端化，需要此步处理。PCR、SSH 等后续处理一般不需要把双链 cDNA 平末端化，则可以跳过 T4 DNA 聚合酶处理步骤，直接用 EDTA 终止反应。																		
2. 电泳 5 μL 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（SSH）等实验。																		

关联产品

一管式双链 cDNA 合成试剂盒 (CAT#:130308)

20190802dx