

Imagene®

TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit

目录号: PR129

产品内容:

Components	PR129-02 (50次)	PR129-03 (100次)
5×TRUE Reaction Mix	200 μl	400 μl
Oligo(dT) ₁₈ (0.5 μg /μl)	50 μl	100 μl
Random primer (N6)	50 μl	100 μl
RNase free H ₂ O	1 ml	2 ml

产品储存: -20℃ 保存, 有效期 12 个月

制品说明: 本制品以 RNA 为模板, 采用预混合技术, 用 5×TRUE Reaction Mix (已经预混合了 TRUEscript H⁻ RTase /RI Mix、5×RT Reaction Mix) 高效合成第一链 cDNA, 操作简单。制品使用通过基因重组技术克隆表达的点突变型 RNase H 活性缺失的 M-MuLV 反转录酶 TRUEscript H⁻ RTase。野生型的 M-MuLV 包含的 RNase H 活性能够催化降解 DNA/RNA 杂合体中的 RNA, 因此在 cDNA 第一条链的合成反应中可能会降解 RNA/DNA 杂合体中的模板 RNA。本酶 M-MuLV(RNase H⁻) 的 RNase H 活性缺失, 与 M-MuLV 相比, 具有更强的延伸能力和稳定性, 可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。

适用范围: 第一链cDNA合成。可用于高拷贝、低拷贝基因的检测。

特点: 合成cDNA片段长度最高可达12 kb。

第一链cDNA合成(以20 μl反应体系为例)

1. 加入

Components	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 µg/5-500 ng
Oligo(dT) ₁₈ (0.5 µg /µl)or	1 µl
Random Primer(0.1 µg/µl) or	1 µl
GSP(Gene Specific Primer)	2 pmol
5×TRUE Reaction Mix	3.6-4 µl (见注意事项 4)
RNase free H ₂ O to final volume	20 µl

注：真核生物 mRNA 带 Poly A 尾和一些带 Poly A 尾的病毒 RNA，反转录引物可以选择 Oligo(dT)₁₈，原核生物或者不带 Poly A 尾的病毒 mRNA 无法使用 Oligo dT，反转录引物只能选择 Random primer N6 (随机引物 N6)。

2. 轻轻混匀

如用Oligo(dT)₁₈或基因特异引物(GSP)，42℃孵育30-50min。

如用Random Primer，25℃孵育10 min，42℃孵育30-50 min。

3. 85℃加热5 秒钟失活TRUEscript H⁻ RTase。

RT-PCR

建议取1/10-1/5 体积(2-4 µl)的反转录产物作为PCR模板。

建议PCR条件(以50 µl反应体系为例)

Components	Volume	Final Concentration
cDNA Template	2 µl	as required
Forward Primer (10 µM)	1 µl	0.2 µM each
Reverse Primer (10 µM)	1 µl	0.2 µM each
10×Taq Buffer (含Mg ²⁺)	5 µl	1×
2.5 mM dNTPs	4 µl	0.2 mM
Taq DNA Polymerase	0.5 µl	2.5 units
ddH ₂ O to final volume	50 µl	Not applicable

PCR 循环

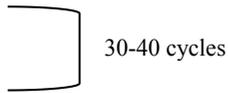
94°C 2-5 min

94°C 30 sec

50-60°C 30 sec

72°C 1-2 kb/min

72°C 5-10 min



注意事项:

1. 避免RNase污染。
2. 为保证反转录成功建议使用高质量的RNA样品。
3. **可选步骤（一般不需要）**：如果RNA模板GC含量丰富或者有复杂二级结构，可以先只加RNA模板、引物 and RNase free H₂O混匀，65°C变性5分钟，冰上冷却，短暂离心后加入其它成分继续下面的反转录步骤。
4. 5×TRUE Reaction Mix非常粘稠，溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失，用前请点甩离心后使用，并且避免吸头外壁沾附损失。**可以每次按照3.6-3.8μl使用，也不影响使用效果。**
- 5.



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St.Economic-Technological Development Area,Beijing,China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com