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

使用前充分混匀，-20℃稳定储存 24 个月，避免反复冻融。

产品名称

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
5×Reaction Mix	400μL
Yfxbio® Supreme-Enzyme Mix	300μL
Nuclease-Free Water	2×1mL

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、在冰浴的 RNase-Free 离心管中配置如下反应体系：

组分	添加量
RNA 模板	10pg-5μg Total RNA 或 10pg-500ng mRNA
5×Reaction Mix	4μL
Yfxbio® Supreme-Enzyme Mix	3μL
Nuclease-Free Water	补足至 20μL

2、轻轻混匀，瞬时离心，使液体全部离心至离心管底部。

3、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
25℃	10min	去除残留基因组 DNA
55℃	15min	cDNA 合成
85℃	5min	酶失活

4、取 1-2μL 反应液直接用于后续 PCR 反应（反应体系为 20μL），或在-20℃保存、并于半年内使用，长期储存需分装后-70℃保存，避免反复冻融。

附：如 RNA 中基因组污染不严重的情况下，也可以使用如下程序：

反应温度	反应时间
25℃	2min
55℃	15min