ABScript Full Length Reverse Transcriptase for Single Cell

产品目录号：RK20414

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1 5,000 U	规格-2 20,000 U
Reverse Transcriptase	RM21003	25 μL	100 μL
5X RT Buffer	RM21005	100 μL	400 μL

产品说明

ABScript Full Length Reverse Transcriptase for Single Cell 是经基因工程改造的具有低 RNase H 活性的 M-MuLV 反转录酶，具有 Template-switching 活性，能在 cDNA 3’末端添加接头序列，利用 Oligo (dT) VN Primer 和 Template-switching oligo（TSO）Primer，能起始低至 10 pg 总 RNA 的逆转录反应，获得更高的全长 cDNA 产量，适用于少量模板以及低拷贝基因的逆转录。

产品来源

编码突变的 M-MuLV Reverse Transcriptase (RNase H-) 基因在大肠杆菌中表达并经过多步纯化精制而成。

保存温度

-20℃

活性定义

1 活性单位（U）是指以 Poly(rA)•Oligo d(T)18 为模板的 50 μL 反应体系中，37°C 10 min 内将 1 nmol dTTP 掺入到酸不溶性物质所需的酶量。

适用范围

✧ 适用于含有polyA尾巴的真核生物mRNA或Total RNA样本单细胞全长 cDNA 合成；

✧ 样本投入量: 10 pg~10 ng Total RNA（已裂解的1~1000个细胞）为起始量；

注意事项

✧ 所有的缓冲液和酶应一直置于冰上。

✧ 使用各类试剂时应小心，避免试剂与样本间的交叉污染。

✧ 请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证RNase-free。

操作说明

1. RNA 预变性

1.1. 按照下表配置 RNA 预变性反应体系。

试剂	体积
Total RNA/已裂解的细胞*	10 μL
Oligo (dT) RT Primer（10 μM）（自备）	1 μL
dNTP（5 mM）（自备）	1 μL
Total volum	**12 μL**

1.2. 用移液器轻轻吹打混匀，短暂离心后置于冰上放置。在 PCR 仪中按照以下反应程序运行（热盖 105℃）：

温度	时间
72℃	5 min
反应结束立即放置冰上*	2 min

注：反应结束后立即至于冰上放置至少 2 min。

2. 第一链 cDNA 合成

2.1. 提前将 5X RT Buffer、Reverse Transcriptase 组分从-20℃冰箱取出，放置于冰上溶解，待组分充分溶解后震荡混匀并短暂离心。按照下表配置第一链 cDNA 合成反应体系。

试剂	体积
步骤 1.2 产物	12 μL
5X RT Buffer	4 μL
TSO Primer（20 μM）（自备）	2 μL
RNase Inhibitor（20 U/μL）（自备）	1 μL
Reverse Transcriptase	1 μL
Total volum	**20 μL**

2.2. 使用移液器轻轻吹打混匀，短暂离心后立即置于 PCR 仪中，运行程序如下（热盖 105℃）：

温度	时间
42℃	90 min
70℃	10 min
12℃	Hold

2.3. 程序运行结束后，取出第一链 cDNA 产物。后续可直接用于 dscDNA 合成或于-80℃暂存：