



smART Combo First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR

Nr Kat.	Opakowanie
E0808-01	50 reakcji
E0808-02	200 reakcji

Przechowywanie: -20°C

Kontrola jakości: Wszystkie preparaty są sprawdzane na obecność endo- i egzonukleaz, jak również niespecyficznych RNaz i DNaz.

smART Combo First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR pozwala na szybką, specyficzną i wydajną syntezę cDNA do użycia w reakcjach real-time PCR (qPCR).

Synteza cDNA przeprowadzana jest w pierwszym etapie, matrycą w tej reakcji jest całkowite RNA lub poly(A)⁺-RNA (1pg-5 µg). Drugi etap reakcji, qPCR, przeprowadza się w osobnej probówce, używając jako matrycę DNA uzyskane w pierwszym etapie.

Combo Enzyme Mix zawiera unikatową odwrotną transkryptazę smART dedykowaną do amplifikacji z dużą wydajnością i specyficyznością DNA z każdego RNA w szerokim zakresie temperatur (50-65°C) oraz inhibitor RNaz wydajnie blokujący RNazy A, B, C.

5 x Reaction Mix zawiera zoptymalizowane składniki niezbędne do syntezy cDNA, dNTPs, randomizowane heksamery oraz Anchored Oligo dT.

SKŁADNIK:	E0808-01	E0808-02
Combo Enzyme Mix	25 µl	100 µl
5 x Reaction Mix	200 µl	800 µl
Woda wolna od RNaz	1 ml	4 ml

I Synteza cDNA :

1. Umieść 5 x Reaction Mix w temperaturze pokojowej, po rozmrożeniu wymieszaj delikatnie.
2. Mieszaninę reakcyjną przygotuj na lodzie w probówce 0.2-0.5 ml wg protokołu:

Składnik:	Ilość:
5 x Reaction Mix	4 µl
Combo Enzyme Mix	0.5 µl
Matryca RNA 1 pg-5 µg	x µl
Woda wolna od RNaz	do 20 µl
Objętość końcowa	20 µl

3. Wymieszaj delikatnie pipetując.
4. Inkubuj 10 min w 25°C, następnie 15 min w 50°C.
5. Zakończ reakcję inkubując 5 min w 85°C.

cDNA jest gotowe i można je bezpośrednio wykorzystać do przeprowadzenia reakcji qPCR lub do tygodnia przechowywać w temperaturze -20°C. Dla długotrwałego przechowywania cDNA zaleca się temperaturę -70°C. Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania preparatu cDNA.

II qPCR

1-2 µl cDNA z pierwszego etapu jest wystarczające do wydajnej reakcji qPCR w 25 µl (mniej niż 10% PCR objętości końcowej reakcji).

smART Combo First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR jest zoptymalizowany do użycia z większością produktów EURx do qPCR, zapewniając pożądaną, wysoką jakość amplifikacji.

W szczególności polecamy:

Detekcja SYBR Green I Nr Kat. : E0401, E0402, E0405, E0406, E0407, E0400, E0411, E0412, E0413.

Detekcja sondą Nr Kat.: E0420, E0421, E0422, E0423.

Pozostałe metody detekcji Nr Kat.: E0403, E0404.