

YeaCell™ 1st Strand Synthesis kit for Single Cell 3' RNA-seq

一链 cDNA 合成试剂盒 (单细胞 3' RNA-seq)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
YeaCell™ 1st Strand Synthesis kit for Single Cell 3' RNA-seq 一链 cDNA 合成试剂盒 (单细胞 3' RNA-seq)	13594ES04	4 T
	13594ES08	8 T
	13594ES95	120 T

产品简介

YeaCell™ 1st Strand Synthesis kit for Single Cell 3' RNA-seq 利用 Oligo (dT)18 及 TSO Primer 引物对单细胞转录本基因进行逆转录, 适用于微流控的微量体系。其产物可以经过通用引物进行 PCR 反应富集 cDNA, 然后使用翌圣的酶切建库试剂盒, 构建测序文库。本产品采用了在 M-MLV(RNase H-)Reverse Transcriptase 基础上经过多点突变的全新逆转录酶, 具有高逆转录效率, 低错配率, 高保真度等优势。

产品组分

组分编号	名称	13594ES04	13594ES08	13594ES95
13594-A	RT buffer	76 µL	152 µL	2×1130 µL
13594-B	RT Enzyme mix	36 µL	72 µL	1056 µL

运输与保存方法

-25~-15°C保存, 有效期 1 年。

适用范围

1. 适用于哺乳动物或者没有细胞壁的真核生物细胞的高通量单细胞全长 cDNA 合成。
2. 10 pg~1 µg 带有 poly (A) 的总 RNA。
3. 本品不适合原核生物总 RNA 和有降解的 RNA, 如 FFPE RNA。

注意事项

1. 请使用无 RNase 污染的耗材, 并对实验区域定期进行清理, 推荐使用 Thermo Fisher 公司的 RNAZap™ 高效核酸去除喷雾去除 RNA 酶污染。
2. 建库需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 本产品仅用作科研用途!

使用方法

方法 1: 若实验方案为高通量单细胞实验, 根据不同的单细胞仪器进行适当调整

1) 准备 Reaction Buffer, 提前将 RT buffer, Template Switch Oligo (自备), Reducing Agent B (自备) 室温解冻, 颠倒混匀, 微离心于管底, 置于冰上备用。

表 1 Reaction Buffer 反应体系

组分/样品	体积 (μL)
RT buffer	18.8
Template Switch Oligo	2.4
Reducing Agent B	2
RT Enzyme mix	8.8
Total	32

2) 按照上表将各组分混合于 8 联排低吸附离心管中, 枪头缓慢吹打瞬离, 置于冰上。

3) 后续使用参照 Cat#12520ES (适配 10x Genomics 单细胞仪器) 说明书进行后续操作。

方法 2: 若为逆转录实验, 参考此步骤

Step 1 RNA 变性

1. 按照表2配置反应液:

表 2 RNA 预变性反应体系

名称	体积 (μL)
Oligo (dT)18 (20~50 μM) (自备)	1
已裂解的 cell or RNA	12
Total	13

2. 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬离将反应液离心至管底。于 PCR 仪上进行如下反应: (热盖 80°C on) 70°C, 5 min; 立即置于冰上 3 min。

Step 2 第一链 cDNA 的合成 (1st Strand Synthesis)

1. 将第一链合成试剂从-20°C取出, 室温解冻, 颠倒混匀后瞬离。按表3所示, 配制第一链cDNA合成的反应液。

表 3 第一链 cDNA 合成反应体系

名称	体积 (μL)
上一步	13
5×RT Buffer	4
TSO Primer (需自行摸索浓度) (自备)	1
RT Enzyme mix	1
ddH2O	1
Total	20

2. 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬离将反应液离心至管底。于 PCR 仪上进行如下反应: (热盖 105°C on) 42°C, 90 min; 70°C, 15min; 4°C, hold。

3. 产物可直接用于二链 cDNA 合成或于-80°C暂存。