天净沙系列

CAT#:220725

低温运输，-20℃保存

单细胞逆转录试剂盒

Single Cell RT Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

单细胞是非常重要的实验材料，但是由于单细胞中的 RNA 很少，一个人体细胞只有 6 pg 的基因组 DNA，一个小鼠胚胎干细胞只有 2 万多个 mRNA 分子，一个小鼠成纤维细胞只有 50 万个 mRNA 分子。因此单个细胞根本没法用来进行核酸纯化。为了克服次缺点，本公司开发了单细胞逆转录试剂盒，它具有下列特点：

1. 直接用 1-500 个细胞进行逆转录，免去 RNA 纯化过程中不可避免的 RNA 丢失。
2. 得到的 cDNA 可以用于 RT 和 PCR 分离的两步法 RT-PCR，方便用户用珍贵的 cDNA 进行更多靶基因的后续染料法或探针法 qPCR 检测。
3. 所含 RNA 保护剂可有效抑制 RNA 的降解。
4. 所含保护剂能有效克服痕量 RNA 因非特异性吸附产品的丢失。
5. 本产品足够进行 200 次 5 μL 体系的单细胞裂解和 200 次 10 μL 体系的逆转录。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装
单细胞裂解液（RNA 专用）	220107	1 mL	1.5 mL 本色盖
5×单细胞 RT Buffer A	220725a	400 μL	0.5 mL 白盖管
5×单细胞 RT Buffer B	220725b	400 μL	0.5 mL 绿盖管
单细胞专用 MMLV	220725c	100 μL	0.5 mL 红盖管
使用手册	220725sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

制备单细胞所需试剂

使用方法

1. 用户需要根据样本细胞种类选用合适的方法（如胰酶消化）制备单细胞悬液，对已经处于单细胞悬浮状态的细胞（如卵细胞），则可以跳过此步。本试剂盒不含相关试剂。
2. 将 5.5 μL 单细胞裂解液（RNA 专用）预先分装到 0.2 mL PCR 管中或 96 孔板中，分装的管数根据样品数决定。
3. 用流式细胞仪或在倒置显微镜下用液压显微操作器将 1-500 个细胞转移到上步所得的、预装了裂解液的 PCR 管或 96 孔板中。
4. 细胞进入裂解液后，裂解即发生。细胞裂解后在常温最多只能放 5 小时。如果不需要立即使用，必须将样品放-80℃长期保存。细胞裂解液可以反复冻融最多 5 次。

	5. 如果立即使用，则在裂解样品中加入 2 μL 5×单细胞 RT Buffer A。 6. 65℃保温 5 分钟后立即放冰上。 7. 加入 2 μL 5×单细胞 RT Buffer B。 8. 加入 0.5 μL 单细胞专用 MMLV，轻柔吹打混匀，总体系为 10 μL。 9. 在 PCR 仪上按下列参数进行逆转录反应：25℃保温 5 分钟，50℃保温 60 分钟，55℃保温 15 分钟，70℃保温 15 分钟。 10. 所得 cDNA 可以直接用于后续 PCR，也可以放-20℃长期保存。 后续染料法 qPCR：本产品不含相关试剂，操作过程仅供参考。 11. 加入 50 μL 自备超纯水到 10 μL cDNA 中稀释 cDNA。 12. 取 3 μL 上步所得 cDNA 稀释液作为 PCR 模板，加入浓度为 4 μM 的自备 PCR 引物各 1μL，加入 5μL 2×染料法 PCR Mix，总体积为 10 μL。 13. 根据选定的 PCR 程序进行染料法 qPCR 并进行溶解曲线分析。
关联产品	单细胞 RT 试剂盒