天净沙系列

CAT#:220727

低温运输，-20℃保存

单细胞 RT-PCR 试剂盒

Single Cell RT-PCR 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 RT-PCR 试剂盒，它具有下列特点：

1. 直接用 1-500 个细胞进行 RT-PCR，免去 RNA 纯化过程中不可避免的 RNA 丢失。
2. 本产品采用 RT 和 PCR 分离的两步法设置，方便用户用珍贵的 cDNA 样本进行更多靶基因的 PCR 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. 本产品为快捷试剂盒，且单细胞核酸含量低，故不包含基因组 DNA 去除部分，可尽量从引物设计层面排除基因组干扰。
6. RT 所得的 cDNA 可以用户后续染料法 PCR 和探针法 PCR 检测。本产品只包括染料法 PCR 试剂。
7. 本产品足够进行 200 次 5 μL 体系的单细胞裂解、100 次 10 μL 体系的逆转录、200 次 10 μL 体系的染料法 qPCR 实验。
8. 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 白盖管
5×单细胞 RT Buffer A	220725a	400 μL	0.5 mL 蓝盖管
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
2×染料法 qPCR MasterMix	990408	1 mL	1.5 mL 本色盖
使用手册	220727sc	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，靶基因专一的 PCR 引物（不能扩增基因组 DNA）

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 5μL 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 1 μL 单细胞专用 MMLV，轻柔吹打混匀，总体积为 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。 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 1 μL，加入 5 μL 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。 14. 如果用户需要用 cDNA 进行探针法 PCR 检测，需要自备相关试剂。
关联产品	单细胞 RT 试剂盒