DYNEBIO 다인바이오주식회사

Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit

◆ 제품구성

Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit			
Cat. No.	**BN610 (25rxns)**	**BN613 (50rxns)**	**BN615 (100rxns)**
Oiligo $d(T)_{20}$	25 µl	50 µl	100 µl
Random hexamers	25 µl	50 µl	100 µl
dNTP mix (each 10 mM)	25 µl	50 µl	100 µl
5X RT reaction buffer	100 µl	200 µl	400 µl
0.1 M DTT	25 µl	50 µl	100 µl
RNase inhibitor	25 µl	50 µl	100 µl
Thermo RTase (200 unit/µl)	25 µl	50 µl	100 µl
DEPC treated water	0.3 ml	0.6 ml	1.2 ml
Certificate Analysis	1 ea	1 ea	1 ea

◆ 보관온도

· -20℃

◆ 품질관리

· Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit는 500 ng total RNA와 각각 다른 size product (0.5~5 kb)를 이용하는 RT-PCR 증폭 테스트용이다. human *β-actin* primer를 이용하여 total blood RNA 100 pg으로부터 500 bp RT-PCR product가 만들어진다.

◆ 제품특징

· **Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit**은 total RNA 혹은 poly(A)+-selected RNA로부터 1st-strand cDNA로 효율적으로 합성하기 위한 시스템이다. 본 키트는 Dyne *Thermo* Reverse Transcriptase (thermostable, RNaseH negative variant of M-MLV RTase)를 사용하며, 본 효소는 42~55℃에서 활성을 나타낸다. 온도가 단계적으로 상승할수록 RNA template의 internal structural formation의 감소와 RTase의 polymerization의 활성 증가로 인하여 cDNA의 합성이 증가한다. 본 키트에 포함되어 있는 RNase inhibitor는 반응시간 동안 RNA degradation을 억제하여 cDNA의 합성을 효율적으로 증가시킨다. 본 키트로 합성된 1st-strand cDNA는 PCR 혹은 real-time PCR의 template로 사용된다.

◆ 응용분야

· 추가적인 PCR 또는 Real-time PCR 위한 1st-strand cDNA 생성

· cDNA library 구성

◆ 표준반응조건

1. 1st-strand cDNA 합성을 위한 primer 및 RNA의 농도

1) RNAs : total RNA : 10 ng ~ 5 µg
Poly(A)+ RNA : 1 ng ~ 500ng

2) Primers : oligo-$d(T)_{20}$: 0.5 µg or 50 pmoles
Random Hexamer : 50 pmoles
Gene-Specific Primer : 15 ~20 mer

2. 아래와 같이 준비한다.

Components	Vol. (µl)
RNA Template	**(시료량) µl**
Oligo-$d(T)_{20}$, Random Hexamer, or Gene-specific Primers	**1 µl**
dNTP Mix (each 10 mM)	**1 µl**
DEPC-Treated water	**z µl**
Total	**13 µl**

3. 65℃ 에서 5분 동안 반응 후 바로 ice에 둔다.

4. 아래와 같이 mixture에 첨가한다.

Additional components	Vol. (µl)
5X RT Reaction Buffer	**4 µl**
0.1 M DTT	**1 µl**
RNase inhibitor	**1 µl**
Dyne Thermo Reverse Transcriptase	**1 µl**

5. Gene-specific primer를 사용할 경우, reaction mixture를 50℃에서 30~50분 동안 반응시킨다. Oligo-d(T)나 Random hexamers가 반응에 사용되었을 경우, 42℃에서 10분 반응 후 50℃에서 40분간 반응한다.

6. 70℃에서 10분 동안 inactivation한다.

7. 합성된 cDNA는 PCR에 사용하거나 -20℃에 보관한다.

13209 경기도 성남시 중원구 사기막골로 45번길 14 B-B205 (상대원동, 우림라이온스밸리 2차) Tel: 82-31-748-8266 Fax: 82-31-748-8265 www.dynebio.co.kr www.facebook.com/dynebio

◆ 제품종류

Cat. No.	Products	Size
BN610	**Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit**	25 rxns
BN613	**Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit**	50 rxns
BN615	**Dyne 1st-Strand cDNA Synthesis Kit**	100 rxns