

# Синтез первой цепи ДНК с помощью ревертазы Mint и случайных декануклеотидных праймеров

## ПРОТОКОЛ

Версия 1 от 6 ноября 2020 г.

### Требуемые реактивы.

Продукт	Кат. #	Состав
Random(dN)10 праймер	SB002	Случайный декануклеотидный праймер (концентрация 20мкМ)
Обратная транскриптаза Mint	SK003	Mint-ревертаза, 5x Mint-буфер, DTT (20 мМ), Смесь dNTP (10 мМ каждого), Вода, свободная от РНКаз.

Для инкубации реакционной смеси используйте ПЦР-амплификатор.

1. Прогрейте образцы РНК при 65°C в течение 1-2 мин, перемешайте содержимое и сбросьте капли со стенок пробирки на микроцентрифуге.
2. Для каждого образца РНК приготовьте премикс-1 в пробирке, совместимой с используемым амплификатором. Расчет на одну реакцию:

9 мкл	Раствор РНК
1 мкл	Random(dN)10 праймер (20 мкМ)
<hr/>	
10 мкл	Суммарный объем премикса-1

3. Аккуратно перемешайте пипетированием, сбросьте капли со стенок пробирки на микроцентрифуге.

4. Если ваш амплификатор не имеет нагревающейся крышки, добавьте каплю минерального масла в каждую пробирку для предотвращения испарения реакционной смеси.

5. Закройте пробирки и поместите их в амплификатор.

6. Прогрейте смесь 2 мин на 70 °С, перенесите образцы в лед.

7. Приготовьте премикс-2. Расчет на одну реакцию:

4 мкл	5X Mint-буфер
2 мкл	DTT (20 мМ)
2 мкл	Смесь dNTP (10 мМ)
<hr/>	
8 мкл	Суммарный объем премикса-2

8. К премиксу-1 добавьте 8 мкл премикса-2. Перемешайте пипетированием.

9. Добавьте к каждому образцу по 2 мкл ревертазы Mint. Аккуратно перемешайте пипетированием, сбросьте капли со стенок пробирки на микроцентрифуге.

10. Инкубируйте пробирки при 42 °С в течение 40-60 мин.

11. После завершения инкубации поместите пробирки в лед (0 - +4 °С) для остановки реакции. В ходе реакции на дне пробирок может сформироваться бурый осадок. Он не мешает хранению кДНК.

Полученная первая цепь кДНК может быть использована немедленно или храниться при - 20 °С в течение 3 месяцев. Для более долгосрочного хранения используйте -70 °С.

Евроген  
Москва 117997  
ул. Миклухо-Маклая 16/10  
корпус 15  
Тел.: +7 (495) 988-4085  
Факс: +7 (495) 988-4085  
[www.evrogen.ru](http://www.evrogen.ru)