微量卵母细胞（胚胎）高效逆转录试剂盒

V1.2 2026.03.06

型号：T-2150

规格：1 套

保存条件：-20℃冷冻保存，18 个月

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途

产品介绍

微量卵母细胞（胚胎）高效逆转录试剂盒是一款可以快速、高效地从微量细胞、卵母细胞或胚胎中合成第一链 cDNA 的试剂盒，产物可以直接进行荧光定量 PCR 实验。本试剂盒专为卵母细胞等微量细胞逆转录实验设计，通过优化试剂盒组分，本产品无需 RNA 提取，用时短，操作简单，容错率低，全程仅需 27 分钟，提高效率的同时也可以减少纯化过程中的样品损失。本试剂盒最低可以从 2 个卵母细胞中逆转录 cDNA，解决微量细胞用传统逆转录提取方式效果不佳的问题。

试剂盒组分

成分	50 T
RNase-free H2O	1mL
PBS 清洗液	1mL
Cell lysis Buffer *	150 μL
5×gDNA Digester Mix	150 μL
4×SuperMix Plus	250 μL

*包含 RNase

适用范围

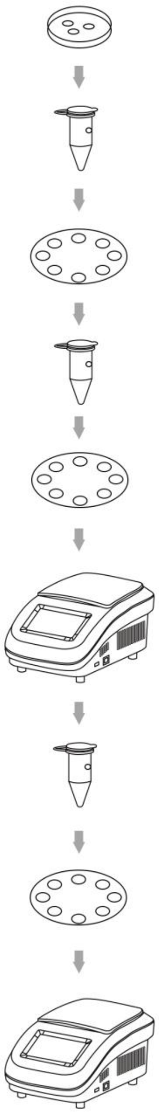
微量细胞。推荐卵母细胞和胚胎 5 枚以上，囊胚 1 枚，其他细胞 10 枚以上。

*由于目的基因表达量不同，本试剂盒需用户提前做预实验摸索

1. 每管添加卵母细胞的个数（2-30 枚）；
2. 后续荧光定量 PCR 实验中模板上样量（2-10 μL）。

流程概要

实验原理与流程概要



洗涤卵母细胞：
在100 μL PBS滴中吹打洗涤3次，去除细胞培养液

将卵母细胞用口吸管吹到离心管侧壁上

提前准备好2.5 μL Cell lysis Buffer置于试管底部

低速离心10 s使卵母细胞沉降至管底，静置5 min

去除gDNA：
加入3 μL 5×gDNA Digester Mix到离心管侧壁上

低速离心10 s使试剂沉降至管底

反应程序：
42℃ 2min

逆转录：
加入5 μL 4×SuperMix Plus到离心管侧壁上

低速离心10 s使试剂沉降至管底

反应程序：
25℃5 min；55℃ 15 min；85℃ 5 min

自备材料和设备

RNase-free 枪头、适配本实验室 PCR 仪的 RNase-free PCR 管、冰盒、适配 PCR 管的离心机、PCR 仪。

使用方法（仅供参考）

1. 样本处理与收集

将 Cell lysis Buffer 从-20℃取出，室温静置溶解后震荡混匀。取 2.5 µL Cell lysis Buffer 置于 RNase-free PCR 管底后置于室温。剩余 Cell lysis Buffer 及时放回-20℃。

卵母细胞或胚胎无需消化透明带，直接将卵母细胞或其他细胞在 100 µL PBS 清洗液滴中吹打洗涤 3 次，去除细胞培养液，随后将卵母细胞（2-30 枚）转移至 1.1 步骤提前准备的含 2.5 µL 裂解液的 PCR 管内侧壁上（建议带入 PBS 体积≤0.5 µL，管底总量约为 3 µL），瞬时离心 10 s 使样品沉降至管底，室温静置 5 min 裂解细胞。**严禁将枪头直接插入管底溶液中吹出细胞，防止移出枪头时因枪头粘附导致部分细胞被带出。在转移细胞时，应尽量减少带入的 PBS 体积（建议带入 PBS 体积≤0.5 µL），带入 PBS 液体过多会稀释裂解液成分，细胞裂解不完全，导致实验失败。**

*样本若不能及时处理，可先放置在-80℃保存，避免反复冻融导致 RNA 降解。

2. gDNA 去除

5×gDNA Digester Mix 从-20℃取出，室温静置溶解后震荡混匀。

全程冰上操作，参照以下表格向含 3 µL 裂解产物的 PCR 管添加试剂。加样操作应将试剂加到管壁上，随后通过 10s 瞬时离心使试剂沉降至管底。严禁将枪头直接插入管底溶液中加样，以免在移出枪头时因吸附作用导致部分 RNA 丢失。

组分	体积
RNase-free H2O	9 µL
5×gDNA Digester Mix	3 µL

*管内总体积为 15 µL。

PCR 仪按如下程序设置：

程序温度	时间
42℃	2 min
4℃	保存

* gDNA 去除后应立即进入下一步骤，避免在 4℃放置过长时间，防止 RNA 降解。

3. 逆转录反应

4×SuperMix Plus 从-20℃取出，室温静置溶解后震荡混匀。

全程冰上操作，参照以下表格向含 15 μL 裂解产物的 PCR 管添加试剂。加样操作应将试剂加到管壁上，随后通过 10 s 瞬时离心使试剂沉降至管底。**严禁将枪头直接插入管底溶液中加样，以免在移出枪头时因吸附作用导致部分 RNA 丢失。**

组分	体积
4×SuperMix Plus	5 μL

* 管内总体积为 20 μL。

PCR 仪逆转录程序设置：

程序温度	时间
25℃	5 min
55℃	15 min
85℃	5 min

*如果模板具有复杂的二级结构或高 GC 区域，可将反应温度提高到 60℃，有助于提高产量。

**产物可立即用于 qPCR 反应，或置于-20℃保存，长期存放建议分装后置于-80℃保存，避免反复冻融。

注意事项

1. 本试剂仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断。
2. 所有加样操作应将试剂加到管壁上，随后通过瞬时离心使样品沉降至管底。严禁将枪头直接插入管底溶液中，以免在移出枪头时因毛细吸附作用导致部分 RNA 或 cDNA 损失。
3. 使用本试剂盒，请穿戴好实验服、一次性口罩、乳胶手套、使用 RNase-free 耗材，全程冰上操作。

常见问题与解决方案

1. qPCR/PCR 无扩增产物或产量低

可能原因：裂解不充分，转移样本时带入 PBS 液体过多，导致裂解液被稀释。

模板问题：样本中靶基因表达量过低，或提取过程中 RNA 损失。

解决方案：需反复练习，将细胞含在管口部位，将全部细胞转移进 PCR 管的同时带入液体越少越好。

如表达量极低，需转入细胞多，同时带入液体量较大，可按比例增加裂解液及后续试剂用量，从而提高裂解产物浓度。

2. RNA 降解

可能原因：样本来源 RNA 已部分降解、裂解产物在室温放置时间过长。

解决方案：确保样本新鲜或正确保存（液氮或-80℃），裂解完成后尽快进行后续逆转录反应，避免产物长时间置于室温。

3. 基因组 DNA 残留较多

可能原因：裂解细胞数量过多、裂解时间过短、基因组 DNA 未完全分离。

解决方案：等比例增加裂解液体积、适当延长裂解时间（但不超过 10 分钟）、确保 DNA 充分释放并被清除。

微信扫码 咨询客服

025-66068668
njabsw@163.com
江苏南京浦口大余所路5号