



## Protokol

### Reverse Transcription mit GeneScript bzw. mit GeneScriptPlus

Cat. GC-016/GC-066

**Für eine 20µl RT-Reaktion in der Reihenfolge zusammensetzen**

5xGeneScript Buffer	4µl
Primer	1µl (random-Hexamer 50ng/µl; oligo-dT 0,5µg/µl bzw. 25 pM von einem Gen-spezifischen primer)
DNA polymerization Mix 10 (10mM each dNTP)	2µl (1mM Endkonzentration von jedem dNTP)
10mM DTT	2µl
RNA template	total RNA – 1-5µg; poly(A) mRNA 1-500ng.
<b>Auffüllen mit H<sub>2</sub>O auf 15µl</b>	
<b>Im Wasserbad bei 80°C 3min inkubieren, auf Eis stellen und danach abzentrifugieren</b>	
Rnasin (10U/µl)	2µl
25mM MnCl <sub>2</sub>	2µl

GeneScript bzw. GeneScriptPlus 1µl

30min bei 42°C (GeneScript) oder

30min bei 52°C (GeneScriptPlus) inkubieren

10min 80°C

abzentrifugieren, auffüllen auf 100µl mit Wasser ("cDNA pool") – davon 1-5µl in PCR mit BioTherm™, BioThermStar™ oder BioThermAB™ verwenden.