

## Integrated First-strand cDNA Synthesis Kit

货号: DN2210-01

规格: 100 次

保存: -20 °C

### 【产品简介】

本产品是一款高效、稳定、快速用于第一链 cDNA 合成的试剂盒, Integrated RT MasterMix 中含有新型耐高温反转录酶, 对于含有二级结构和高 GC 的复杂模板, 可以将逆转录温度提高至 60°C, 克服 RNA 复杂二级结构对 cDNA 合成的抑制, 有效合成高质量 cDNA; StarScriptIII 反转录酶 cDNA 合成能力更高, 非常适合少量模板 以及低拷贝基因的逆转录。以便合成高质量 cDNA。本试剂盒中包含由总 RNA 或 mRNA 合成高质量第一链 cDNA 所需的所有成分, 并提供两种 cDNA 合成引物: RandomPrimer 和 Oligo18 (dT) 的预混液 Primer Mix, 合成的 cDNA 产物可直接用来进行后续 PCR 或者 qPCR 反应。

### 【产品组分】

货号	组分	体积
DN200	Integrated RT MasterMix	100 µl
DN201	2XDiScript Buffer	1ml
DN202	Primer Mix (下游做 qPCR 选用)	100 µl
DN203	Oligo18 (dt) Primer (片段大于 1Kb 选用)	50 µl
DN204	DEPC-dd H <sub>2</sub> O	1.5 ml

### 【保存条件】

-20 °C 恒温保存, 保质期 24 个月。

### 【注意事项】

1. 反转录实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 提取过程中 RNA 样品保存在冰上以防止 RNA 降解。
3. RNA 模板在冰上解冻。所有试剂组分解冻并混匀, 并短暂离心以收集至管底。解冻试剂置于冰上。
4. 逆转录反应产物可直接加入 PCR 反应液中进行扩增, 但体积不应超过 PCR 反应体系的 10%, 否则会影响扩增效果。
5. 第一链 cDNA 合成产物经过处理后可作为第二链合成的模板, 合成含各种标记的 cDNA, 作为杂交实验的探针。
6. RNA 可置于 -70°C 以下长期保存, cDNA 合成产物可置于 -20°C 保存。

### 【简化操作流程】

注: 此简化流程适用于 qPCR 实验中的反转录步骤。

1. 在 DNase&RNase-free 离心管中加入下列成分:

组分	体积
RNA 模板	≤1 µg total RNA 或 ≤0.1 µg poly(A) mRNA
Primer Mix	1 µl*
2XDiScript Buffer	10 µl
Integrated RT MasterMix	1 µl
DEPC-dd H <sub>2</sub> O	补足至 20 µl

\* 根据不同的实验目的, 引物可选择加入试剂盒自带的 Primer Mix, 或是加入 1 µl Oligo18 (dT) 或 1 µl Random Primer。也可以根据实验需要, 加入 1 µl 自备的序列特异性引物 (浓度 20µM)。采用自备的序列特异性引物时, RNA 模板的量可调整为“≤ 5 µg total RNA 或 ≤ 0.5 µg poly(A) mRNA”。

- 轻轻混匀，短暂离心；50°C 孵育 15 min。

注：复杂模板逆转录温度建议提高至 55-60°C。反应时间可根据实验应用场景做适当调整。

- 85°C 加热 5 min 失活 Integrated RT MasterMix。
- 反应结束后所得的 cDNA，请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

### 【标准操作流程】

注：按此步骤操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率，增加 cDNA 产物的长度。

- 按照下表配制反应体系

组分	体积
RNA 模板	≤1 μg total RNA 或 ≤0.1 μg poly(A) mRNA)
Primer Mix	1 μl*
DEPC-dd H <sub>2</sub> O	补足至 9 μl

\* 根据不同的实验目的，引物可选择加入试剂盒自带的 Primer Mix，或是加 1 μl Oligo18 (dT) 或 1 μl Random Primer。也可以根据实验需要，加入 1 μl 自备的序列特异性引物 (浓度 20 μM)。采用自备的序列特异性引物时，RNA 模板的量可调整为“≤5 μg total RNA 或 ≤0.5 μg poly(A) mRNA”。

- 65°C 孵育 5 min，再立即冰浴 2 min。

注：此步骤操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率，增加 cDNA 产物的长度。

- 在上述反应管中加入反转录反应液，总体积为 20 μl。

组分	体积
步骤 2 处理后的反应液	9 μl
2XDiScript Buffer	10 μl
Integrated RT MasterMix	1 μl
总反应体系	20 μl

- 轻轻混匀，短暂离心，25°C 孵育 10 min，50°C 孵育 30-50 min。

注：复杂模板逆转录温度可升高至 55-60°C，提高反转录效率。

反应时间可根据实验应用场景做适当调整。如合成的 cDNA 用作 qPCR 模板，则反应条件为 50°C 孵育 15 min，见【简化操作流程】。

- 85°C 加热 5 min 失活 Integrated RT MasterMix。
- 反应结束后所得的 cDNA，请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。