

# cDNA第一链合成试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.0.0.1)

## 产品说明

1st Strand cDNA Synthesis Kit (cDNA第一链合成试剂盒) 包含M-MLV (H-) Reverse Transcriptase、反应缓冲液及合成第一链cDNA所需的全部组分, 可用于一般的以总RNA或mRNA为模板的第一链cDNA合成, 也可与模板置换寡核苷酸 (TSO) 搭配, 用于3' 端含有已知序列的第一链cDNA合成。产物后续可进行PCR或qPCR反应, 也可作为 5' RACE (cDNA 末端快速扩增) 或第二链cDNA合成的模板。

产品货号:

JSR-E-501-20 (20次反应) JSR-E-501-50 (50次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 产品组份.....                | 1 |
| 储存条件.....                | 1 |
| 来    源.....              | 1 |
| 活性单位.....                | 1 |
| 浓    度.....              | 1 |
| 用    途.....              | 1 |
| 实验流程.....                | 2 |
| 第一链合成的引物退火 .....         | 2 |
| 配制第一链cDNA合成反应液 .....     | 2 |
| 按下列条件进行第一链cDNA合成反应 ..... | 2 |

## 产品组份

| 试剂盒组成                                      | JSR-E-501-20 | JSR-E-501-50 |
|--------------------------------------------|--------------|--------------|
| M-MLV (H-) Reverse Transcriptase (200U/μl) | 20μl         | 50μl         |
| 4 x First-Strand Buffer                    | 200μl        | 200μl        |
| dNTPs (10mM each)                          | --           | 50μl         |
| Oligo (dT) 18VN (50μM)                     | --           | 50μl         |
| Nuclease-free Water                        | --           | 1ml          |

## 储存条件

该试剂盒请置于-25~-15℃保存。

## 来源

重组E.coli菌株，携带有从M-MLV中克隆的改良后的反转录酶基因。

## 活性单位

以Poly (rA) · Oligo (dT) 为模板/引物，在37℃，10min条件下，掺入1nmol的dTTP为酸不溶性物质所需要的酶量定义为1个活性单位 (U) 。

## 浓度

200units/μL

## 用途

1. cDNA第一链的合成。
2. RT-PCR反应以及 Real Time RT-PCR反应。

## 实验流程

1. 第一链合成的引物退火

配制如下混合液：

| 组分                                                                              | 体积        | 终浓度       |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|
| Total RNA/mRNA                                                                  | 0.1-2μl   | 2pg-200ng |
| Oligo (dT) 18VN (50μM)<br>或 Random Primers (50ng/μ)<br>或 Specific Primer (10μM) | 1μl       | 1μM       |
| dNTPs (10mM each)                                                               | 1μl       | 1mM       |
| Nuclease-free Water                                                             | Up to 6μl | -         |

用移液器轻轻吸打10次，短暂离心，将溶液收集至底部。70℃加热5min，热盖温度≥为85℃，迅速置于冰上骤冷，并在冰上静置2min。

2. 配制第一链cDNA合成反应液

| 组分                                         | 体积    | 终浓度 |
|--------------------------------------------|-------|-----|
| 上一步的混合液                                    | 6μl   |     |
| 4 x First-Strand Buffer                    | 2.5μl | 1X  |
| M-MLV (H-) Reverse Transcriptase (200U/μl) | 1μl   | 1X  |

用移液器轻轻吸打10次，短暂离心，将溶液收集至底部。

3. 按下列条件进行第一链cDNA合成反应

|     |       |
|-----|-------|
| 42℃ | 90min |
| 85℃ | 5min  |
| 4℃  | Hold  |

产物可立即用于PCR或qPCR反应，或在-20℃保存，并在半年内使用；长期存放建议分装在-70℃保存。cDNA应避免反复冻融。