

## cDNA 第一链合成 RNA 逆转录试剂盒说明书

### 试剂组成

A2010A0601	50T	Storage
5×Reaction Buffer (含 Mg <sup>2+</sup> )	300 μL/vial 1 Vial	-20°C
M-MLV 酶 (200 Units/μL)	50 μL/vial 1 Vial	-20°C
Recombinant Rnasin (40 Units/μL)	25 μL/vial 1 Vial	-20°C
通用引物 oligo (dT) (100 μM)	60 μL/vial 1 Vial	-20°C
随机引物 GPR-6 (100 μM)	120 μL/vial 1 Vial	-20°C
10mM dNTP mix	70 μL/vial 1 Vial	-20°C
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	1.5 mL/vial 1 Vial	-20°C
说明书	1 份	

### 产品介绍

cDNA 第一链合成试剂盒包括了一种全新高效逆转录酶、反应缓冲液及该实验中必需的反应组分。使用该试剂盒能够以总 RNA 或 mRNA 为模板高效逆转录成互补的 cDNA 第一链, 进而开展后继的相关实验。

试剂盒可逆转录 0.1 至 10 μg 的总 RNA, 合成的 cDNA 第一链模板用于定量 PCR, 合成的 cDNA 第一链模板-20°C 可保存一年。

### 产品使用限制

1. 本产品只用于分子生物学研究。其不应用于诊断、预防和治疗疾病。在使用本产品时应遵从相应的注意事项;
2. 本产品中部分试剂有腐蚀性或毒性, 勿直接接触皮肤或吞咽;
3. 操作时请穿戴实验服和手套, 如接触皮肤, 应立即用大量清水冲洗;
4. 误食或其他危急情况, 请及时到医院就治;
5. 部分试剂易燃, 请注意消防安全。

### 客户自备设备和试剂

1. 已制备的总 RNA 样本;
2. 0.6mL 及 1.5mL Eppendorf 管 (无菌、无酶、RNase-free; 货号 A2010B0X04);
3. RNase-free Tips (1000μL、200μL 的枪头; 货号 A2010B0X09);
4. 移液器 (200μL, 1000μL);
5. 恒温水浴锅或金属浴, 冰浴盒;
6. 12000g 冷冻离心机;

### 操作说明

1. 提前将试剂盒中试剂及总 RNA 样本放置冰浴, 温度平衡至冰点;
2. 震荡混匀所有试剂及总 RNA 样本并瞬时离心;

电话: 021-51692391 免费热线: 400 880 1880 Email: [lab@biotnt.com](mailto:lab@biotnt.com) 主页: [www.biotnt.com](http://www.biotnt.com)

3. 在每个 0.6 mL Rnase-free Eppendorf 管中加入 1-2  $\mu\text{g}$  的总 RNA 样本；
4. 每管加入 0.8  $\mu\text{l}$  OligoDT 以及 1.6  $\mu\text{l}$  随机引物 GPR-6，补充适量的 DEPC 水至总体积达 10  $\mu\text{l}$ ；( 如所有样本 RNA 量相近，无需通过体积调整 RNA 量均一，这步也可计算配制总管预混后分装 )
5. 震荡混匀后瞬时离心；
6. 恒温金属浴 70°C 温育 5 mins，冰浴备用；
7. 按下表配置 RT 反应液，震荡混匀；

下表为 1 份样本的量，如需要逆转录 n 份的 RNA，请配置 n+1 份进行分装：

反应液组分	20- $\mu\text{L}$ 体系	Custom	终浓度
5 $\times$ Reaction Buffer	4.0 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	1 $\times$
10mM dNTPmix	1.0 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	0.5 mM
Recombinant Rnasin ( 40 Units/ $\mu\text{L}$ )	0.3 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	0.6 Units/ $\mu\text{L}$
M-MLV 酶 ( 200 Units/ $\mu\text{L}$ )	0.8 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	8 Units/ $\mu\text{L}$
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	3.9 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	—
共计	10 $\mu\text{L}$	$\mu\text{L}$	

8. 在冰浴后的每个离心管中加入 RT 反应液 10  $\mu\text{L}$ ，此时离心管内总体积为 20  $\mu\text{L}$ ；
9. 震荡混匀后瞬时离心；
10. 恒温金属浴中 42°C 反应 60 mins；
11. cDNA 产物应置于 -20°C 保存。

## 注意事项

1. 本试剂盒可逆转录合成体系为 20  $\mu\text{L}$  的 cDNA 样本，如需要加大体系，可等比增加加入试剂量；( 例：合成 100  $\mu\text{L}$  的 cDNA，所有试剂加入量乘以 5 倍 )
2. 本试剂盒试剂额外损耗相对较大，建议客户根据自身样本数量订购相应规格的试剂盒，以免出现试剂浪费或不足现象；
3. 总 RNA 量建议大于 100 ng，以保证 cDNA 得率；
4. 样本中建议避免有机物或酚污染，以保证逆转录效率；
5. M-MLV 和 Recombinant Rnasin 含有甘油，在 -20°C 条件下是液体，保存时间为 1 年，避免保存在 -80°C 导致反复冻融，避免在常温下保存的时间过久影响效价；
6. 得到的 cDNA 产物建议直接用 PCR 或者 Real Time PCR 进行内参验证。

## 技术支持

BioTNT 为其所提供的技术支持质量和效率而自豪。我们的技术支持部门在样品及检测领域及对 BioTNT 产品具有丰富的实践经验和充足的理论知识。如果您 PCR 或其它产品有问题或遇到困难，请联系我们，无需迟疑。

BioTNT 客户是我们产品改进和特殊应用信息的主要来源。您所提供的信息对于 BioTNT 的研究人员很有帮助。当您对产品性能或新的应用及新的技术有任何建议时，我们希望您能及时联系我们。

有关技术支持和更多信息，请浏览 [www.biotnt.com](http://www.biotnt.com) 的网页或致电 BioTNT 的技术支持部门。