

HP All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis Kit RT102

■ 产品概述

本产品为 HP 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNA Remove) 的升级版本。本试剂盒可在一步操作反应下同时完成基因组去除与逆转录，减少了操作步骤的同时还降低了复杂加样过程造成的样品污染与 RNA 降解的风险。并且优化的缓冲体系有效的提高了灵敏度及复杂结构的反转效率。试剂盒中包含的单组分逆转录引物 Oligo (dT) 20 VN 和 Random primers，方便用户可灵活选择进行后续实验。本试剂盒既可合成用于克隆等下游实验的全长 cDNA (可达 20 kb)，也可以合成高度均一的用于 qPCR 定量的 cDNA。

■ 产品组成

组分	RT102 100 rxns/20 µl
4×All-in-one RT Master Mix ^{*1}	500 µl
Oligo (dT) 20 VN	100 µl
Random primers	100 µl
RNase Free H ₂ O	1 ml

*1. 含 RT 酶、RNase inhibitor、dNTP、gDNA Remove 组分。

◆ 后续实验为 PCR 时操作流程

1. 第一链 cDNA 合成反应液配制

组分	1×
4×All-in-one RT Master Mix	5 µl
Oligo (dT) 20 VN	1 µl
or Random primers	1 µl
or gene specific primer (GSP)	2 pmol
Total RNA	10 pg-1 µg
or polyA+ RNA	10 pg-100 ng
RNase Free H ₂ O	Up to 20 µl

用移液枪轻柔吹打混匀。

反应程序

反应温度	时间
25°C ^{*1}	5 min
42°C ^{*2}	30 min
85°C	5 sec

*1: 使用 Random primers 时需要此步骤；使用 GSP 或 Oligo(dT)20 VN 时省略此步骤。

*2: 对于富含复杂结构和高 GC 的模板，可将温度调整至 50°C，有助于提高反转录效率和产量。

◆ 后续实验为 qPCR 时操作流程

1. 逆转录反应体系配制

组分	1×
4×All-in-one RT Master Mix	5 µl
Oligo (dT) 20 VN	1 µl
Random primers	1 µl
Total RNA	10 pg-1 µg
or polyA+ RNA	10 pg-100 ng
RNase Free H ₂ O	Up to 20 µl

用移液枪轻柔吹打混匀。

反应程序

反应温度	时间
37°C ^{*1}	15 min
85°C	5 sec

*1: 对于富含复杂结构和高 GC 的模板, 可将温度调整至 50℃, 有助于提高反转录效率和产量。

■ 保存条件

-30~-15℃保存, 干冰/-20℃运输。

■ 注意事项

- ✓ 本制品每次使用时务必使用桌面离心机点离后用移液枪轻柔地吹打混匀, 避免剧烈震荡, 以免酶失活。
- ✓ 反应体系需要在冰上配制, 配制好的反应液需轻柔混匀离心后再放置于 PCR 仪中反应。
- ✓ 反转录过程中使用的相关耗材需确保无酶无菌。
- ✓ 反转产物可立即用于 qPCR/PCR 反应, 或在-20℃保存, 并在半年内使用; 长期存放建议分装后在-80℃保存。cDNA 应避免反复冻融。