

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

RT102

产品概述

Product Overview

本产品为 HP 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNA Remove)的升级版。可在一步操作反应下同时完成基因组去除与逆转录，减少操作步骤，降低加样过程中样品污染与 RNA 降解风险。优化的缓冲体系可有效提高复杂结构模板的反转效率。试剂盒中包含单组分的逆转录引物：Oligo(dT)20 VN 和 Random primers，方便用户根据后续实验灵活选择。既能用于扩增克隆等下游实验的全长 cDNA，也可合成高度均一的 cDNA 用于 qPCR 定量检测。

产品组成

Product Composition

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

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

注意事项

Precautions

1. 逆转录产物可立即用于 qPCR/PCR 反应；长期存放建议分装后在-80℃冻存。cDNA 应避免反复冻融。
2. 使用前请使用桌面离心机点离后用移液枪轻柔吹打混匀，避免剧烈震荡，以免酶失活。
3. 反应体系在冰上配制，配制好的反应液轻柔离心混匀后再放置于 PCR 仪中反应。
4. 逆转录过程中使用的相关耗材需确保无菌无酶。

操作流程

Operation Process

◆ 后续实验为 PCR 时操作流程

1.RNA 变性（可选：该步骤有助于提高复杂基因的反转录效率和产量。）

组 分	1×
Total RNA	10 pg-1 μ g
or polyA ⁺ RNA	10 pg-100 ng
RNase Free H ₂ O	Up to 14 μ L

65℃ 孵育5 min，迅速置于冰上骤冷，并在冰上静置2 min。

2.第一链 cDNA 合成反应液配制

*1：若选择第一步（RNA 变性）后，可在第一步反应液中直接添加 4×All-in-one RT Master Mix and Oligo (dT) 20 VN or Random primers or Gene specific primer(GSP)。

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
(选择 RNA 变性) 第一步的反应液 ^{*1}	14 μL

用移液枪轻柔吹打混匀。

3. 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 含量的模板, 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。

2. 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°C, 有助于提高反转录效率和产量。

保存条件

Storage Conditions

-30 ~ -15°C 保存, 干冰/-20°C 运输。