

HP 1st Strand cDNA Synthesis Kit (+gDNA Remove) RT101



产品概述

Product Overview

本产品为 1 链 cDNA 反转录试剂盒。其中包含优化的 5×gDNA 去除预混液、HP RT Enzyme Mix 及 10×RT Buffer。其中的 5×gDNA Remove Mix 能有效清除 RNA 样本中残留的 gDNA，保证后续实验的准确性。优化后的 10×RT Buffer 能够确保高效的第一链 cDNA 合成。单组分逆转录引物：Oligo(dT)20 VN 和 Random primers，方便用户灵活选择进行后续实验；本品可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 定量测试。

产品组成

Product Composition

组 分	RT101 100 rxns/20 μL
5×gDNA Remove Mix	200 μL
10×RT Buffer ^{*1}	200 μL
HP RT Enzyme Mix ^{*2}	200 μL
Oligo (dT) 20 VN	100 μL
Random primers	100 μL
RNase Free H ₂ O	1 mL

*1.含 dNTP

*2.含 RNase Inhibitor

注意事项

Precautions

- 10×RT Buffer 中含有高浓度 DTT，低温下可能有沉淀析出；使用前可在室温融化并轻摇混匀，待沉淀完全溶解后使用。
- 逆转产物可用于 qPCR/PCR 反应，在-20℃短期保存（半年内）；长期存放建议分装后在-80℃保存，并避免反复冻融。
- 使用前请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。
- 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

组 分	1×
Total RNA	10 pg-5 μg
or polyA+ RNA	10 pg-500 ng
RNase Free H ₂ O	Up to 8 μL

65°C 孵育 5 min，迅速置于冰上骤冷，并在冰上静置 2 min。

2. gDNA 去除体系配制

组 分	1×
5×gDNA Remove Mix	2 μL
第 1 步的反应液	8 μL

移液枪轻柔吹打混匀，42°C 孵育 2 min。

3. 第一链 cDNA 合成反应液配制

组 分	1×
第 2 步的反应液	10 μL
10×RT Buffer	2 μL
HP RT Enzyme Mix	2 μL
Oligo (dT) 20 VN	1 μL
or Random primers	1 μL
or gene specific primer(GSP)	2 pmol
RNase Free H ₂ O	Up to 20 μL

4. 反应程序

组 分	1×
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. gDNA 去除体系配制

组 分	1×
Total RNA	10 pg-1 μg
or polyA ⁺ RNA	10 pg-100 ng
5×gDNA Remove Mix	2 μL
RNase Free H ₂ O	Up to 10 μL

用移液枪轻柔吹打混匀。42℃孵育 2 min。

2. 逆转录反应体系配制

组 分	1×
第 1 步的反应液	10 μL
10×RT Buffer	2 μL
HP RT Enzyme Mix	2 μL
Oligo (dT) 20 VN	1 μL
Random primers	1 μL
RNase Free H ₂ O	4 μL

用移液枪轻柔吹打混匀。

4. 反应程序

组 分	1×
37℃ ^{*1}	15 min
85℃	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

Storage Conditions

-30 ~ -15℃保存, 干冰/-20℃运输。保质期限18个月。