

cDNA 第一链合成试剂盒

Cat: DTT010

1. 产品简介

本产品能以 Total RNA 或 Poly (A)⁺ RNA 为模板合成 cDNA 第一链。本试剂盒含有 cDNA 第一链合成所需的全部试剂。试剂盒中附带的 Oligo dT Primer 对于 Poly A⁺ mRNA 的锚定能力更强，逆转录效率更高。DTR Transcriptase 是对一种改良的新型反转录酶，其可以很好地抑制 RNA 高级结构与反转录酶的非特异性结合。产物可广泛应用于 cDNA 第二链合成、PCR 法扩增等，尤其适用于全长 cDNA 合成等。

2. 产品组分

组分	50 rxn (20μl/Rxn)	储存条件
2 × RT Mix	500μl	-20°C
DTR Transcriptase	50μl	-20°C
Oligo dT Primer	50μl	-20°C
Random hexamers	100μl	-20°C
dNTP Mix	100μl	-20°C
RNase- Free water	1ml	-20°C

3. 实验流程

3.1 RNA 模板变性

在 RNase-free 管中配制下表反应液：

试剂	使用量
dNTP Mix	2μl
Oligo dT Primer	1μl
Random hexamers	2μl
GSP Primer	终浓度 2μM
模板	总 RNA 10pg-1μg/mRNA 1pg-500ng
RNase- Free water	补至 9μl

轻轻涡旋混匀，瞬时离心。65°C 保温 5 min 后，迅速冰上冷却至少 3Min。

注：1、此步骤可以使 RNA 变性从而打开二级结构，提高反转录效率；

2、一般情况下首选 Oligo dT Primer，其与 mRNA 的 3' Poly A 尾配对，可获得最高产量的全长 cDNA。基因特异性引物(GSP)和 Random hexamers 引物视具体情况而定。

3.2 配制 cDNA 第一链合成反应液：

试剂	使用量
上一步反应液	9 μ l
2 $\times$ RT Mix	10 μ l
DTR Transcriptase	1 μ l

轻轻涡旋混匀，瞬时离心。

按照下列条件进行逆转录反应：

温度	时间
25°C ^a	5min
42°C	90min
70°C	15min

a. 仅当使用 Random hexamers 时需要此步骤；仅使用 Oligo dT Primer 或 GSP 引物时省略此步骤。

产物可立即用于 PCR 反应，或在-20°C保存；长期存放建议分装后在-80°C保存。cDNA 应避免反复冻融。

感谢您选择德泰生物，我们竭诚为您服务！

For Research Use Only!