



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

[http:// www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: real-times@vip.163.com

RTScript All-in-One 1st-Strand cDNA Synthesis Kit

● 产品货号及规格:

货号	包装	贮存
RTR2103-01	50 次×20μl	-20℃

● 产品组成:

组成	包装
5×RTScript 1st Strand cDNA Synthesis MasterMix	200 μl
gDNA Remover	50 μl
10×gDNA Remover Buffer	100 μl
RNase-free H ₂ O	1 ml

● 产品简介:

本试剂盒含有反转录需要的全部试剂（RTScript MMLv Reverse Transcriptase, RNase Inhibitor, dNTP、反应 Buffer, Oligo (dT)₁₈, Random primer),浓度为 5×。进行 RNA 反转录反应时,只需加入模板和 RNase Free H₂O 即可高效合成第一链 cDNA,大大简化了操作过程、提高了效率、减少了操作过程中的人为误差。本制品含有去基因组成分 gDNA Remover,以 RNA 为模板进行 cDNA 第一链合成时,可以同步去除基因组 DNA 污染,与传统 DNaseI 消化对比,gDNA Remover 消化后无需加入 EDTA 进行失活;反应结束后,65℃加热 2 分钟,就可以不可逆失活。具有快速简便、重复性高、特异性好、灵敏度高和稳定性好的特点。该试剂盒采用的反转录酶去除了 RNase H 活性,从而避免反转录过程中降解 RNA。同时经过突变文库筛选,使得其热稳定性更强,可耐受 50℃ 高温反应。相比于低温条件下反转录反应,采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构,从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度(可以获得 12 kb cDNA)和产量,从而提高后续检测的灵敏度。合成的第一链 cDNA 可广泛用于 2nd Strand 的合成、杂交、PCR 扩增、Real-Time PCR 反应等。

● 贮存和运输:

开封后-20℃贮存两年;湿冰运输。

● 使用方法:

一. 去除基因组 DNA 污染:

1.1 冰上配制如下体系:

组份	加入体积
Total RNA/mRNA	100ng-2 μ g(< 8 μ l)
gDNA Remover	1 μ l
10 \times gDNA Remover Buffer	1 μ l
RNase-free H ₂ O	up to 10 μ l

1.2 轻柔混匀, 快甩离心, 37 $^{\circ}$ C处理 2 min, 去除基因组污染, 冰上放置。

注: 若 RNA 中基因组 DNA 污染严重, 可以延长 37 $^{\circ}$ C处理 5 min。

1.3 65 $^{\circ}$ C处理 2 min, 失活 gDNA Remover, 冰上放置。

二. 第一链 cDNA 合成 (反转录反应):

2.1 冰上配制如下体系:

组份	加入体积
步骤 1 中的反应液	10 μ l
5 \times RTScript 1st Strand cDNA Synthesis MasterMix	4 μ l
RNase-free H ₂ O	6 μ l

2.2 反转录: 轻柔混匀, 快甩离心; 50 $^{\circ}$ C孵育 15 min,

2.3 终止反应: 85 $^{\circ}$ C孵育 5 min, 终止反应。

反应产物可直接用于 PCR, 如果不立即使用, -20 $^{\circ}$ C 保存, 长时间保存建议-80 $^{\circ}$ C 放置。

● 注意事项:

5 \times RTScript 1st Strand cDNA Synthesis MasterMix 中已经包含 Oligo (dT)₁₈ 和 Random primer, 不仅适用于包含 poly(A)结构的真核生物 mRNA, 也适用于不含 poly(A)结构的原核生物 RNA, 真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板, 但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。