



Ry First Strand cDNA Synthesis Kit

使用前请仔细阅读说明书（仅供科研实验使用）

保存：-20°C保存一年

本试剂盒包含一种基因工程改造的、耐高温的 M-MLV 逆转录酶，无 RNase H 活性，可合成长达 13kb 的 cDNA，含有 RNase 抑制剂，能够有效保护 RNA 模板不被降解。试剂盒同时含有 Oligo (dT)₂₀，适用有 Poly(A) 尾的 mRNA 反转录，也可使用随机引物或特异性引物，进行 cDNA 第一链的合成，产物可直接用作 PCR 或荧光定量 PCR 的模板。

产品组成

组分名称	RTF-01	RTF-02	RTF-03
2×RT Reaction Mix	200 μL	500 μL	1 mL
RT/RI Enzyme Mix	20 μL	50 μL	100 μL
Oligo (dT) ₂₀ primer (50 μM)	20 μL	50 μL	100 μL
Random primer (20 μM)	20 μL	50 μL	100 μL
RNase-free ddH ₂ O	500 μL	1 mL	2 mL

使用方法

1、cDNA 第一链合成

组分	体积
Template RNA	100 pg-1 μg
Oligo (dT) ₂₀ primer / Random primer / GSP	1 μL (GSP 终浓度 0.1 μM)
2×RT Reaction Mix	10 μL
RT/RI Enzyme Mix	1 μL
RNase-free ddH ₂ O	加至 20 μL

2、混匀，50°C 孵育 10 分钟，85°C 加热 10 分钟失活 RT 酶。

3、反转录产物可以直接用于后续的 PCR、qPCR 反应等，也可以 -20°C 冻存备用。20 μL PCR 或 qPCR 反应体系推荐使用 1-2 μL 反转录产物。

如：

1) 用于 PCR 反应

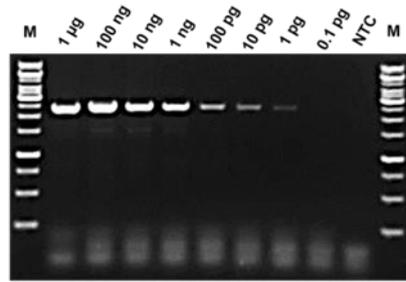


图1、10倍梯度稀释 MCF-7 细胞 RNA 提取物, RNA 模板为 1 μg 至 0.1 pg , 用 RY First Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录成 cDNA, 2 μL 逆转录产物作为模板使用若鱼 2 \times HG PCR Mix 扩增 NCBP 基因。

2) 用于 qPCR 反应

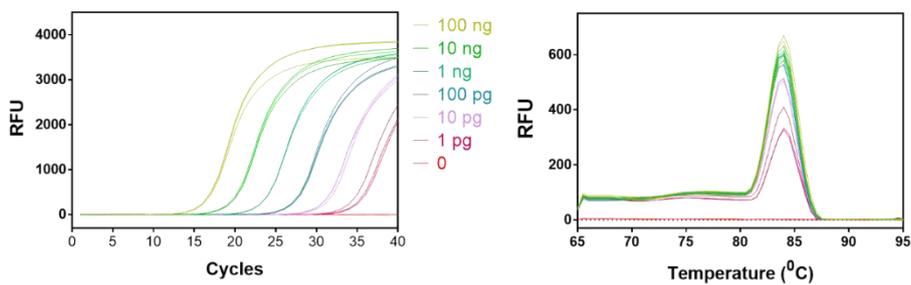


图2、10倍梯度稀释 MCF-7 细胞 RNA 提取物, RNA 模板为 100 ng 至 1 pg , 用 RY First Strand cDNA Synthesis Kit 逆转录成 cDNA, 2 μL 逆转录产物作为模板使用若鱼 2 \times SYBR Green qPCR Mix 扩增 GAPDH 基因。

注意事项

- 1、所有操作均应在冰上进行, 且操作过程应避免 RNase 污染, 防止 RNA 降解。
- 2、建议 20 μL 体系中 Total RNA 的投入量不超过 1 μg 。如果目的基因的表达丰度低, 可增加投入量至最多 5 μg Total RNA。
- 3、20 μL qPCR 反应体系推荐使用 1-2 μL 反转录产物, 不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
- 4、逆转录产物可立即用于 PCR 或 qPCR 反应, 或于 -30 $^{\circ}\text{C}$ ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 并在半年内使用; 长期存放建议分装后于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存, cDNA 应避免反复冻融。

