

【产品概述】

本产品是基于 GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase 的第一链 cDNA 合成试剂盒。博岳 GeniuScript™ IV 逆转录酶与前代产品相比具有更好的热稳定性、极低的 RNase H 活性、出色的稳健性与可靠性，并在抑制剂耐受、高 GC 含量靶标 RNA 合成效率、cDNA 合成长度等方面得到极大提升。

试剂盒包含了高质量合成第一链 cDNA 所需的各种成分，用户可根据需要选择 Oligo (dT)₁₈、Random Hexamers，基因特异引物（Gene Specific Primer, GSP），或不同引物组合等方式进行逆转录反应。逆转录合成的第一链 cDNA 可用于后续的 PCR、qPCR、杂交、NGS 等实验。

【产品组分】

组 分		M5RT02 (50 rxns)
GeniuScript™ IV Enzyme Mix ^a		100 µL
5× GeniuScript™ IV Buffer ^b		250 µL
Oligo (dT) ₁₈ (50 µM)		50 µL
Random Hexamers (50 µM)		50 µL
RNase-free ddH ₂ O		1 mL

a. 包含逆转录酶和 RNase inhibitor。

b. 包含 dNTP mix 和 DTT。DTT 在低温下可能会有析出，待沉淀完全溶解后使用。

【储存与运输】

干冰或冰上运输，-20℃避光保存；避免反复冻融。



【注意事项】

- 实验所用的 PCR 管、枪头、移液器等耗材需保证 RNase-free。
- 如果模板为真核生物来源，一般情况下首选 Oligo (dT)₁₈，与真核生物 mRNA 的 3' Poly A 尾配对，可获得最高产量的全长 cDNA；原核生物可选用基因特异性引物（GSP）或 Random Hexamers。
- 基因特异性引物（GSP）特异性最高。但有些情况下，用于 PCR 反应的 GSP 无法有效引导第一链 cDNA 合成。这时，可改用 Oligo (dT)₁₈ 或 Random Hexamers 进行逆转录反应。
- Random Hexamers 有助于改善 cDNA 合成，增加 Random Hexamers 浓度，可提高 cDNA 产量，但其特异性最低，导致 cDNA 片段较短，不适用于较长 RNA 的全长逆转录。
- 将 Oligo (dT)₁₈ 与 Random Hexamers 混合使用，可使 mRNA 的各个区域 cDNA 合成效率相对均一，有助于提高定量结果的真实性和重复性。

【实验操作】

1. RNA 模板变性

在 RNase-free PCR 管中配制如下混合液：

组分		推荐用量
Template RNA (10 pg-5 µg total RNA / 10 pg-500 ng mRNA)		up to 13 µL
Oligo (dT) ₁₈ (50 µM)	●	1 µL
or Random Hexamers (50 µM)	●	
or Gene Specific Primer (2 µM)		
RNase-free ddH ₂ O	○	to 14 µL

用移液器吹打混匀；65℃孵育 5 min 后，迅速放置冰上 2 min。

注：RNA 模板变性有助于提高第一链 cDNA 产量。



2. 配制第一链 cDNA 合成反应液

在上述 PCR 管中按下表加入反应成分：

组分	推荐用量
上一步混合液	14 μL
5× GeniuScript™ IV Buffer	4 μL
GeniuScript™ IV Enzyme Mix	2 μL

用移液器吹打混匀后瞬时离心。

按下列条件进行第一链 cDNA 合成反应

温度	时间
25°C ^a	5 min
50°C ^b	15~30 min
85°C	5 min

a. 仅当使用 Random Hexamers 时需要此步；使用 Oligo (dT)₁₈ 或 Gene Specific Primer 时省略此步。

b. 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将反应温度提高至 55°C，有助于提高产量。

3. 第一链 cDNA 产物可立即用于下游反应；或置于-20°C保存，并在半年内使用，应避免反复冻融；长期存放建议分装后-70°C保存。当产物直接用于 PCR 扩增时，用量不宜超过 PCR 反应体系的 1/10。

【相关产品】

货 号	产 品	应 用
M1TR01	BRizol™ Universal Total RNA Isolation Reagent	总 RNA 提取
M1TR02	BRizol™ Universal Total RNA Isolation Kit (Beads)	
M3HF01	High-Fidelity DNA Polymerase	
M3HF02	2× High-Fidelity PCR Master Mix	高保真扩增
M4QS04	2× HotStart SYBR qPCR Master Mix	荧光定量 PCR 分析
M4QP02	2× HS Taq Universal Probe Master Mix	

Hangzhou BioEast Biotech. Co., Ltd.

Room 701, Building 3#, Hexiang Technology Center, Hangzhou Biopharma Town, Hangzhou China

Tel: 0571-86963020

Web: www.bioeast.com





**SERVE SCIENCE
SEE THE FUTURE**