

Bio RT 高灵敏 cDNA 第一链合成试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称: Bio RT 高灵敏 cDNA 第一链合成试剂盒

英文名称: BioRT Master HiSensi cDNA First Strand Synthesis kit

【包装规格】

100T/盒

【用途】

本试剂盒用于生化分子领域中 RNA 逆转录实验, 可将各类 RNA (total RNA, mRNA, tRNA, rRNA) 逆转录为 cDNA, 满足不同长度 cDNA 合成需求 (cDNA 长度最长可达 14kb)。本试剂盒采用的高灵敏高效率逆转录酶, 可逆转录极微量的 RNA 模板 (可低至 1pg), 大大提高了实验效率。

【检验原理】

本试剂盒采用去 RNaseH 活性的高效率 M-MLV 酶, 在优化后的 Primer mix(Oligo-dT 和 Random primer) 存在条件下, 可实现高效率的逆转录反应。

【组成成分】

货号	BSB40M1
试剂盒组成	100T
Hybrid mix	500 μ L
Enzyme mix	50 μ L
Nuclease free water	1mL

【储存条件及有效期】

试剂盒所有组分均须贮存在-20 $^{\circ}$ C 冰箱内, 保存期限为 12 个月, 采用泡沫盒冷冻条件运输; 反复冻融不宜超过 5 次。

【适用仪器】

本试剂盒适用于博日公司所有定性系列 PCR 检测系统及其它厂家同类定性 PCR 检测系统。

【实验操作】

1 逆转录反应体系配制

Hybrid mix	5 μ L
Enzyme mix	0.5 μ L
RNA	1pg-2 μ g
RNase free water	up to 10 μ L
Total volume	10 μ L

- 当需要进行多管逆转录实验时, 建议先在大离心管中配制所需管数用量的 master mix, 充分混匀后, 再对单独 PCR 管进行分装, 最后添加 RNA 模板。
- 本试剂盒内的 Hybrid mix 已包含 dNTP、oligo dT 和 random primer。除此之外, 客户也可以使用基因特异性引物。此时, 在反应体系中添加的最终浓度为 0.5pmol/ μ L。

2 逆转录反应条件

在 37 $^{\circ}$ C 条件下, 进行 20min 逆转录反应;

↓

在 98 $^{\circ}$ C 条件下, 进行 5min 酶失活反应;

↓

反应结束, 4 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ C 保存。

- 对于容易形成高级结构的 RNA, 可先在 65 $^{\circ}$ C 下热变性 5min, 并立即置于冰上冷却, 可提高逆转录效率。

- 在进行以上步骤处理时，请不要添加Hybrid mix和Enzyme mix。

【相关注意事项】

- 1 RNA模板可采用总RNA或mRNA，建议使用Biozol(BSC51M1)制备高质量RNA。
- 2 逆转录实验应严格避免污染，尤其是RNase的污染，故在进行本实验操作时，建议采取以下措施：
 - 2.1 实验全程穿戴一次性手套和口罩，防止皮肤表面和唾液的污染；在接触过可疑污染源后，勤换手套；坚持使用RNase-free的移液器头和离心管。
 - 2.2 有条件的实验室应在专门的RNA实验区域进行本实验，严格采用无菌操作技术进行实验，减少实验区域人员流动。
- 3 本试剂盒所有组分（Nuclease-free water除外）在进行实验时，都应放置在冰上，Enzyme mix应在吸取前先离心，使溶液聚集于管底部，吸取后应立即将其放回冰上。Hybrid mix含dNTP，应避免常温放置和反复冻融。Hybrid mix在融化时，溶液中可能会有白色沉淀析出，这属正常现象，不影响品质。此时，只需将其涡旋振荡混合均匀，待溶液恢复澄清透明后即可使用。
- 4 试剂盒请在保质期内使用，不同批号的试剂应避免混用。

【基本信息】

生产企业名称：杭州博日科技有限公司

地址：杭州市滨江区滨安路 1192 号

邮政编码：310053

电话：0571-87774567

传真：0571-87774553

网址：www.bioer.com.cn