



逆转录合成第一链cDNA试剂盒（去基因组）说明书

货号：WGD-X-3100127

产品介绍

逆转录合成第一链 cDNA 试剂盒(去基因组)使用的 Reverse Transcriptase 是在 M-MLV(H-)Reverse Transcriptase 基础上突变得到的全新逆转录酶。具有更好的热稳定性，使其可用于具有二级结构或 GC 含量较高的 RNA 模板的逆转录，并且错配率降低，提高了克隆的保真度，适合少量模板以及低拷贝基因的逆转录。

本产品以 RNA 为模板，在同一反应体系中，合成第一链 cDNA 的同时去除 RNA 中残留的 gDNA。操作简单，可有效降低多步骤操作过程中造成的样品污染和 RNA 降解的风险。

产品目录

产品名称	规格
逆转录合成第一链 cDNA 试剂盒（去基因组）	50 rxns
	100 rxns

产品组成

组分	50 rxns	100 rxns
2× RT Reaction Mix	500 μL	1 mL
RT Enzyme Mix	50 μL	100 μL
DNase/RNase-free H ₂ O	1 mL	1 mL×2

产品用途

用于 RNA 逆转录。

产品特点

高热稳定性、操作简便、兼容性好。

注意事项

- 操作过程应在冰上进行，操作过程应避免 RNase 污染，使用 RNase-Free 的枪头等耗材。
- 建议逆转录得到的 cDNA 原液稀释 5 ~ 10 倍后再作为模板使用，若直接使用原液作为模板，建议 cDNA 原液体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
- 为保证反转录成功，建议使用高质量的 RNA 模板。
- RT Enzyme Mix 中含有高浓度甘油，溶液容易吸附在管壁和枪头外壁导致损失，用前请甩点离心，枪头不宜浸入试剂液面过低，尽量避免枪头外壁沾附损失。
- 产物可立即用于 qPCR 检测，或在 -20 °C 保存，长期保存建议放置在 -80 °C。
- 本产品仅供科研使用！



操作步骤

使用时按照下表反应体系：取相应 2×RT Reaction Mix、RT Enzyme Mix，加入模板 RNA，并加入 DNase/RNase-free H₂O 补足体积，按照条件进行反转录反应即可。

1. 第一链 cDNA 合成和 gDNA 去除反应体系：

成分	用量
2× RT Reaction Mix	10 μL
RT Enzyme Mix	1 μL
Total RNA or Poly A ⁺ RNA	(100 pg ~ 5 μg) or (10 pg ~ 1 μg)
DNase/RNase-free H ₂ O	Up to 20 μL

2. 反应条件：

步骤	温度	时间
1	25 °C	5 min
2	50 °C	15 min
3	85 °C	5 min

注意:若目标产物含量低，可延长步骤 2 反应时间至 25 min。

储存及运输条件

-25 ~ -15 °C 保存 12 个月，干冰运输。

常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
无逆转录产物 或目标产物含 量低	起始 RNA 量不够。	增加 RNA 用量。
	RNA 被降解。	重新提取 RNA，RNA 溶解使用 DNase/RNase-free H ₂ O，并保 存在-80 °C，避免反复冻融。
	RNA 中包含逆转录抑制剂。	通过乙醇沉淀去除抑制剂。
	多糖同 RNA 共沉淀。	使用氯化锂沉淀 RNA 去除多糖。
	RNA 存在二级结构或 GC 含量高。	RNA 使用前在 65 °C 加热 5 min，迅速置于冰上 2 min。 提高反应温度，延长反应时间。
	目的基因含量低。	延长反应时间或添加特异性引物。