



Custom Reverse Transcription Kit

使用说明书

【产品简介】

Custom Reverse Transcription Kit 是 RT 用的最佳反转录反应试剂, 专为两步法 RT 第一步实验配制的, 具有高灵敏度, 可以从极低量的总 RNA 或 poly(A)⁺ RNA 合成第一链 cDNA。与 PCR 反应相结合, 可用于检测稀有基因的表达、从极少量细胞中定量检测特定 mRNA 的表达水平、克隆特定基因的 cDNA 片段等。

【注意】

- 1.用于 cDNA 合成反应的溶液试剂尽可能用 DEPC 进行处理, 并在高压灭菌后使用。有些试剂不能高压灭菌时, 首先用经过灭菌的器具、水等配制溶液后, 再将溶液进行过滤除菌处理。
- 2.RNA 样品要避免基因组 DNA 污染。
- 3.避免多次反复冻融 RNA。
- 4.试剂盒的各组成成分应在-20℃保存。
- 5.cDNA 产物应置于-20℃保存

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LR-0102A (20μl×50 次)	LR-0102B(20μl×100 次)
RT Master Mix(2×)	500μl×1 支	1.0ml×1 支
RT Enzyme Mix	50μl×1 支	100μl×1 支
RNase Free ddH ₂ O	1ml×1 支	1ml×1 支
说明书	1 份	1 份

【试剂运输及储存条件】

试剂盒运输可在2-8℃环境下进行。储存时, 须置-20℃保存。本试剂盒有效期为12个月, 在有效期内使用。

【操作步骤】

注意: 下列操作步骤适用于模板量为 50ng-2μg 的总 RNA, 如果总 RNA 量大于 2μg, 请按比例扩大反应体系。

- 1.将模板 RNA 完全融化并至于冰浴中, 将特异性引物、RT Master Mix、RT Enzyme Mix、RNase Free ddH₂O 溶解后, 稍微震荡混匀, 离心后置于冰浴中。
- 2.反转录试剂准备: 在冰浴条件下按下表配制反应液

反应成分	体积/反应	终浓度
RT Master Mix(2×)	10μl	1×
RT Enzyme Mix	1μl	
反向特异性引物(1μM)	1.2μl	60nM
RNA 模板	5-8μl	
RNase Free ddH ₂ O	补水至 20μl	
总体系	20μl	

注意: 当同时需要进行多次 RT 反应时, 将各组分加倍混合后再分装到每个反应管中, 可以减少实验操作产生的误差, 使所取的试剂体积更准确, 减少试剂损失。

3. 反转录扩增检测 (在扩增检测区进行) 循环参数设定: (请参照各类仪器的操作软件进行设置)

步骤	温度	时间	循环数
1 反转录反应	42-50℃	30-45分钟	1
2 预变性	85℃	10分钟	1

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。