



# SuperRT cDNA Synthesis Kit

目录号：CW0741S (25 rxns)  
CW0741M (100 rxns)

保存条件：-20°C

## 产品内容

Component	CW0741S 25 rxns	CW0741M 100 rxns
SuperRT, 200 U/μl	25 μl	100 μl
5×SuperRT Buffer	120 μl	500 μl
Primer Mix	60 μl	240 μl
dNTP Mix, 2.5 mM Each	120 μl	500 μl
RNase-Free Water	1 ml	1 ml

## 产品简介

本产品是专为两步法RT-PCR第一步实验配制的cDNA第一链合成试剂盒。该试剂盒中使用的逆转录酶是一种利用大肠杆菌工程菌进行重组与表达的全新高效逆转录酶，去除了RNase H活性并增强了其热稳定性，可利用极低量的总RNA或mRNA合成cDNA第一链，起始样本量可低至pg级。SuperRT逆转录酶与RNA亲合能力强，能通读GC含量高，二级结构复杂的RNA模板，获得高产量的cDNA。

本产品包含从RNA模板逆转录成cDNA第一链所需的所有试剂，含有Super RT高效逆转录酶、反应缓冲液、引物、dNTP等，使用简单方便。本系统对后续的PCR以及定量PCR试验兼容性高，适用各种PCR反应的DNA聚合酶。

## 产品特点

- 高效逆转录：与RNA模板亲和力高，逆转录效率高达90%，可识别pg级别的模板。
- 自由应对复杂模板：即使GC含量高，二级结构复杂的模板，无需高温变性，也可得到良好结果。

## 注意事项

1. 在操作过程中应避免RNase污染，防止RNA降解或实验中的交叉污染，建议在专门的区域进行RNA操作，使用专门的仪器和耗材，操作人员戴口罩和一次性手套并经常更换手套。
2. 实验尽量使用一次性塑料器皿，若使用玻璃器皿，应使用0.1%DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在37℃处理12小时，并在120℃下高压灭菌30分钟后使用，或者将玻璃器皿在180℃下干热灭菌60分钟后使用。实验中用到的无菌水应使用0.1%的DEPC处理后进行高压灭菌。
3. 本试剂盒中的所有试剂使用前请上下颠倒轻轻混匀，尽量避免起泡，并经短暂离心后使用。所涉及的酶类使用后应尽快放回-20℃，避免反复冻融。
4. 若起始RNA的量小于50 ng，建议加入RNA酶抑制剂（RNasin）。本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号：CW0596。

## 使用方法

注意：1 ng-5 µg总RNA可建立20 µl反应体系，如果总RNA量大于5 µg，请按比例扩大反应体系。

### i 逆转录操作步骤：

1. 将RNA模板、Primer Mix、dNTP Mix、SuperRT Buffer、SuperRT和RNase-Free Water溶解并置于冰上备用。
2. 根据以下表格配制反应体系，总体积为20 µl。

试剂	20 µl反应体系	终浓度
dNTP Mix, 2.5 mM Each	4 µl	500 µM Each
Primer Mix	2 µl	
RNA Template	X µl	50 pg-5 µg
5×SuperRT Buffer	4 µl	1×
SuperRT, 200 U/µl	1 µl	
RNase-Free Water	up to 20 µl	

注意：1) 若起始RNA的量小于50 ng，则建议加入RNA酶抑制剂 (RNasin)。本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号：CW0596。

2) Primer Mix由Oligo(dT)和Random Primer配制而成。可根据实验需要可使用Oligo-dT Primer或Gene Specific Primer，建议 20 µl 反应体系Oligo-dT Primer 50 pmol，或Gene Specific Primer 2 pmol。

3. 涡旋震荡混匀，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。
4. 42℃孵育30-50分钟，85℃孵育5分钟。反应结束后，短暂离心，置于冰上冷却。
5. 逆转录产物可直接用于PCR反应和荧光定量PCR反应，或置于-20℃长期保存。

### ii 若逆转录效率低，或RNA模板二级结构复杂、GC含量高时，建议采用以下步骤：

1. 将RNA模板、Primer Mix、dNTP Mix、SuperRT Buffer、SuperRT和RNase-Free Water溶解并置于冰上备用。
2. 根据以下表格配置反应体系，总体积为15 µl。

试剂	20 µl反应体系	终浓度
dNTP Mix, 2.5 mM Each	4 µl	500 µM Each
Primer Mix	2 µl	
RNA Template	X µl	50 pg-5 µg
RNase-Free Water	up to 15 µl	

注意：Primer Mix由Oligo(dT)和Random Primer配制而成。可根据实验需要可使用Oligo-dT Primer或Gene Specific Primer。

3. 70℃孵育10分钟，迅速冰浴2分钟。
4. 短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。
5. 继续向以上反应液中加入以下试剂：

试剂	20 $\mu$ l 反应体系	终浓度
5 $\times$ SuperRT Buffer	4 $\mu$ l	1 $\times$
SuperRT, 200 U/ $\mu$ l	1 $\mu$ l	

**注意：若起始RNA的量小于50 ng，则建议加入RNA酶抑制剂 (RNasin)。**

**本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号：CW0596。**

6. 42℃孵育30-50分钟，85℃孵育5分钟。
7. 反应结束后，短暂离心，置于冰上冷却。
8. 逆转录产物可直接用于PCR反应和荧光定量PCR反应，或置于-20℃长期保存。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途