

Fast 1st Strand cDNA Synthesis Kit (for PCR/qPCR)

快速一链 cDNA 合成试剂盒（用于 PCR/qPCR）

产品简介

本产品经典的反转录试剂基础上，优化了反应时间，总反应时长最快可低于 6 分钟，且具有稳定的检出率、特异性、产量保证，适合具有复杂的 RNA 模板、少量模板以及低拷贝基因的反转录。

本产品反转录产物，可用于下游 PCR 或 qPCR 应用。试剂盒提供两种 cDNA 合成引物：Random Primers N6 和 Oligo (dT)₁₈，用户可根据需要选择使用。

产品规格

产品货号	N132064E	N132064S
产品规格	10 T	100 T

产品组分

组分编号	组分名称	N132064E	N132064S
N132064-A	4×Fast cDNA Synthesis Mix (No Dye)	50 μL	500 μL
N132064-B	5×gDNA Digester Mix	20 μL	200 μL
N132064-C	Random Primers (50 μM)	20 μL	200 μL
N132064-D	Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μM)	20 μL	200 μL
N132064-E	RNase-free H ₂ O	200 μL	2×1 mL

产品储存

-25°C~-15°C保存，有效期 1 年。

操作注意

1. 所有操作均应在冰上进行，且操作过程应避免 RNase 污染。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 本产品仅作科研用途！

操作说明

一、含 gDNA 去除反转录步骤

1. gDNA 消化

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液，用移液器轻轻吹打混匀。42°C 孵育 2 min。

组分	使用量
5×gDNA Digester Mix	2 μL
Total RNA or mRNA	Total RNA: 10 pg-5 μg mRNA: 10 pg-500 ng
RNase-free H ₂ O	Up to 10 μL

【注】：建议 Total RNA 的投入量不超过 2 μg。如果目的基因表达丰度低，可增加投入量至最多 5 μg。

2. 反转录体系配置

组分	使用量
上一步反应液	10 μL
4×Fast cDNA Synthesis Mix (No Dye)	5 μL
Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μM) or Random Primers (50 μM)	2 μL
RNase-free H ₂ O	Up to 20 μL

【注】：1) 引物投入量可根据模板投入量调整，若下游实验为 qPCR，可在体系中按推荐量添加 Random Primers；2) 建议先加入 4×Fast cDNA Synthesis Mix (No Dye)混匀后再加入反转录引物，以保证引物不受 gDNA Digester 影响；3) 体系配制完成后，请用移液器轻轻吹打混匀。

3. 反转录程序设置

温度	时间
55°C	5 min
85°C	5 sec

二、不含 gDNA 去除反转录步骤

1. 反转录体系配置

组分	使用量
4×Fast cDNA Synthesis Mix (No Dye)	5 μL
Oligo d(T) ₁₈ Primers (50 μM) or Random Primers (50 μM)	2 μL
Total RNA or mRNA	Total RNA: 10 pg-5 μg mRNA: 10 pg-500 ng
RNase-free H ₂ O	Up to 20 μL

2. 反转录程序设置

温度	时间
55°C	5 min
85°C	5 sec

【注】：

- 1) 建议 Total RNA 的投入量不超过 2 μg。如果目的基因的表达丰度低，可增加投入量至最多 5 μg。
- 2) 引物投入量可根据模板投入量调整，若下游实验为 qPCR，可在体系中按推荐量添加 Random Primers；
- 3) 对于高 GC 含量模板或者复杂模板，可将反转录温度提高到 60°C。
- 4) 本产品可合成 14 kb 以下的 cDNA 序列，如需得到更长的 cDNA 产物，可适当延长反转录时间。