

SuperRT III Reverse Transcription Kit

SuperRT III 反转录试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
|---------|--------------------|-------|
| BL1018A | SuperRT III 反转录试剂盒 | 20 T |
| BL1018B | SuperRT III 反转录试剂盒 | 100 T |

产品简介:

SuperRT III 反转录酶是升级版第三代反转录酶，与第二代反转录酶相比，SuperRT III 反转录酶具有更高的热稳定性，对于复杂二级结构和高 GC 含量靶标，可将反转录温度提高至 55-60°C，克服 RNA 复杂二级结构对 cDNA 合成的抑制，有效合成高质量的 cDNA，非常适合少量模板以及低拷贝基因的反转录。

本产品中包含由总 RNA 或 mRNA 合成高质量第一链 cDNA 所需的所有成分，并提供两种 cDNA 合成引物：Random Primer 和 Oligo18 (dT)的预混液 Primer Mix，合成的 cDNA 产物可直接用来进行后续 PCR 或者 qPCR 反应。

产品组分:

| 组分名称 | BL1018A | BL1018B |
|-------------------------------|-------------|-------------|
| SuperRT III Enzyme Mix | 20 μ l | 100 μ l |
| 2 \times SuperRT III Buffer | 200 μ l | 1 ml |
| Primer Mix | 20 μ l | 100 μ l |
| Nuclease-free Water | 1 ml | 1.5ml |

简化流程:

注：此简化流程适用于 qPCR 实验中的反转录步骤。

1. 在 DNase/RNase-free 离心管中加入下列成分：

| 组分 | 体积 |
|-------------------------------|--|
| 2 \times SuperRT III Buffer | 10 μ l |
| RNA 模板 | $\leq 1 \mu\text{g}$ total RNA 或 $\leq 0.1 \mu\text{g}$ poly(A) mRNA |
| Primer Mix | 1 μ l* |
| SuperRT III Enzyme Mix | 1 μ l |
| Nuclease-free Water | 补足至 20 μ l |

注* 根据不同的实验目的，引物可选择加入 1 μ l Oligo18 (dT)或者 1 μ l Random Primer，或者将 Oligo18 (dT)和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μ l 混合引物加入。也可以根据实验需要，加入 1 μ l 自备的序列特异性引物（浓度 20 μ M）。采用自备的序列特异性引物时，RNA 模板的量可调整为“ $\leq 5 \mu\text{g}$ total RNA 或 $\leq 0.5 \mu\text{g}$ poly(A) mRNA”。

2. 轻轻混匀，短暂离心；50°C 孵育 15 min。

注：复杂模板反转录温度建议提高至 55-60°C。反应时间可根据实验应用场景做适当调整。

3. 85°C 加热 5 min 使酶失活。

4. 反应结束后所得的 cDNA，请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

标准流程:

注：按此步骤操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率、增加 cDNA 产物的长度。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



1. 在 DNase/RNase-free 离心管中加入下列成分:

| 组分 | 体积 |
|---------------------|--|
| RNA 模板 | ≤ 1 μg total RNA 或 ≤ 0.1 μg poly(A) mRNA |
| Primer Mix | 1 μl* |
| Nuclease-free Water | 补足至 9 μl |

* 根据不同的实验目的, 引物可选择加入 1 μl Oligo18 (dT) 或者 1 μl Random Primer, 或者将 Oligo18 (dT) 和 Random Primer 按照一定的比例混匀后取 1 μl 混合引物加入。也可以根据实验需要, 加入 1 μl 自备的序列特异性引物 (浓度 20 μM)。采用自备的序列特异性引物时, RNA 模板的量可调整为“≤ 5 μg total RNA 或 ≤ 0.5 μg poly(A) mRNA”。

2. 65°C 孵育 5 min, 再立即冰浴 2 min。

3. 在上述反应管中依次加入下列成分:

| 组分 | 体积 |
|------------------------|-------|
| 步骤 2 处理后的反应液 | 9 μl |
| 2×SuperRT III Buffer | 10 μl |
| SuperRT III Enzyme Mix | 1 μl |
| 总反应体系 | 20 μl |

4. 轻轻混匀, 短暂离心, 进行反转录反应。25°C 孵育 10 min, 50°C 孵育 30-50 min。

注: 反应时间可根据实验应用场景做适当调整。如合成的 cDNA 用作 qPCR 模板, 则反应条件为 50°C 孵育 15 min, 见【简化流程】。

5. 85°C 加热 5 min 使酶失活。

6. 反应结束后所得的 cDNA, 请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

注意事项:

- 各个组分在使用之前请完全溶解并充分混匀, 以防因盐离子浓度不均影响实验结果
- 根据后续实验的需求, 选择是否需要在反转录反应前去除残留基因组 DNA。
- SuperRT III RTase 合成的第一链 cDNA 产物可直接加入 PCR 反应混合物中进行扩增, 但加入体积不应超过 PCR 反应总体系的 10%, 否则影响目的片段的产量。PCR 扩增使用的耐热 DNA 聚合酶和热循环条件需要根据目的片段的大小、GC 含量、引物特性、以及对保真度的要求等进行选择。
- 第一链 cDNA 合成产物经过处理后可作为第二链合成的模板, 合成含各种标记的 cDNA, 作为杂交实验的探针。
- RNA 应置于 -70°C 以下保存, cDNA 合成产物应置于 -20°C 保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

-20°C 保存, 保质期 24 个月。

