

## bScript II First-strand cDNA Synthesis Mix

### bScript II cDNA 第一链合成预混试剂

【货号】 C06-01012

【规格和组分】

组分名称	20rxn	50rxn
bScript II Enzyme Mix	20 $\mu$ l	50 $\mu$ l
2 $\times$ Reaction Mix (with Primer)	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l
DEPC-ddH <sub>2</sub> O	300 $\mu$ l	600 $\mu$ l

【保存】 -20 $^{\circ}$ C保存两年，避免反复冻融。

【产品简介】

本产品是专为两步法 RT-PCR 第一步实验设计的高灵敏度反转录反应预混体系，优化的反应体系 2 $\times$ Reaction Mix (with Primer) 中预混了 Random Primer 和 Oligo18 (dT) Primer，简化了加样操作步骤，避免了操作误差和污染的风险；本产品可以从极少量的总 RNA 或 poly(A) mRNA 合成第一链 cDNA，合成的 cDNA 产量高，对后续的 PCR 或 real time PCR 实验兼容性好，适合于各种耐热 DNA 聚合酶。

【操作流程】

1. 按照下表配制反应体系：

组分	体积
RNA 模板	$\leq 1 \mu\text{g total RNA}$ 或 $\leq 0.1 \mu\text{g poly(A) mRNA}$
2 $\times$ Reaction Mix(with Primer)	10 $\mu$ l
bScript II Enzyme Mix	1 $\mu$ l
DEPC-ddH <sub>2</sub> O	补足至 20 $\mu$ l

2. 轻轻混匀，短暂离心；42 $^{\circ}$ C 孵育 15-50 min；

注：复杂模板逆转录温度建议提高至 50 $^{\circ}$ C；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 42 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。

3. 85 $^{\circ}$ C 加热 5 分钟失活 bScript II Enzyme Mix；

4. 反应结束后所得的 cDNA，置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 除酶以外的各种试剂，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。
3. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用，因此请选择可靠的 RNA 提取/纯化方法。
4. 由于所有的 RNA 提取方法都不能完全去除基因组 DNA，所以应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。
5. bScript II Enzyme Mix 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。
6. RNA 可置于 -70 $^{\circ}$ C 以下长期保存，cDNA 合成产物可置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。