



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-168-3301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## BeyoRT™ cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)

产品编号	产品名称	包装
D7166	BeyoRT™ cDNA 第一链合成试剂盒(RNase H-)	10次

### 产品简介:

- BeyoRT™ cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-), 即BeyoRT™ First Strand cDNA Synthesis Kit (RNase H minus)是一种采用了经过改造和优化的BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-), 用于在总RNA、mRNA等RNA模板的基础上反转录产生cDNA第一链的试剂盒。本试剂盒包含了进行cDNA第一链合成所需的各种试剂。
- 采用本试剂盒可以合成长达13kb的cDNA第一链。在采用BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)的情况下, 由于缺失了RNase H, RNA和DNA双链复合物中的RNA不会被降解, 这样反转录出来的cDNA的长度就会更长, 并且产量更高。
- 试剂盒中提供了RNase Inhibitor, 确保在反转录过程中的RNA不会被RNA酶所降解并取得较好的反转录效果。
- 试剂盒还提供了Oligo(dT)<sub>18</sub>和random hexamer这两种引物, 前者适合用于带有Poly(A)尾的mRNA的反转录, 后者进行反转录时不需要poly(A)尾。也可以自行采用基因特异性引物进行cDNA第一链的合成。
- 试剂盒中提供的Control Primer为17聚, 即引物的长度为17个碱基。试剂盒中提供的Control RNA为带有3' poly(A)的1.1kb RNA。
- 使用本试剂盒合成的第一链, 可以直接用于后续的常规PCR、real-time PCR、cDNA第二条链的合成等。
- 本试剂盒用于体积为20微升的cDNA第一链合成反应时足够进行10个cDNA第一链样品的合成。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7166-1	BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-) (200U/μl)	2000U
D7166-2	Reaction Buffer (5X)	50μl
D7166-3	RNase Inhibitor (20U/μl)	10μl
D7166-4	dNTP Mix (10 mM each)	20μl
D7166-5	Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer (0.5μg/μl)	10μl
D7166-6	Random Hexamer Primer (0.2μg/μl)	10μl
D7166-7	Control RNA (20ng/μl)	6μl
D7166-8	Control Primer (5pmol/μl)	6μl
D7166-9	DEPC-treated Water	0.2ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存。

### 注意事项:

- 对于GC含量比较高的RNA的反转录, 试剂盒的使用说明中给予了特别说明, 请予以关注。
- 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, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. cDNA第一条链的合成(First-strand cDNA Synthesis):

##### a. 参考如下表格设置反转录反应:

模板(后面4种任选一种)	Total RNA	0.01-5μg
	或Poly(A) RNA/mRNA	1-500ng
	或Specific RNA	0.01pg-500ng
	或Control RNA	2μl
引物(后面3种任选一种)	Oligo(dT) <sub>18</sub> Primer (0.5μg/μl)	1μl
	Random Hexamer Primer (0.2μg/μl)	1μl
	Gene specific primer	15-25pmol

DEPC-treated Water	—	To 12μl*
70°C孵育5分钟, 随后立即放置到冰浴冷却, 4°C微离心, 随后加入下述试剂**		
Reaction Buffer (5X)	—	4μl
RNase Inhibitor (20U/μl)	—	1μl
dNTP Mix (10 mM each)	—	2μl
BeyoRT™ M-MuLV反转录酶	—	1μl
总体积		20μl

\* To 13.7μl表示加入DEPC-treated Water至最终体积为13.7μl。

\*\* 70°C孵育5分钟并且随后冰浴冷却, 这样可以使RNA模板的二级结构充分打开。

轻轻混匀(可以用Vortex在最低速度轻轻混匀或用移液器吹打混匀), 随后离心沉淀液体。

- 如果使用Oligo(dT)<sub>18</sub>作为引物或使用基因特异性引物, 在42°C孵育60分钟。如果使用random hexamer(随机六聚体)作为引物, 先在25°C孵育10分钟, 随后在42°C孵育60分钟。**注意:** 对于GC含量比较高的RNA模板的反转录反应, 可以设置为45°C孵育60分钟。
  - 70°C孵育10分钟以失活BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-)并终止反转录反应。说明: 对于长片断的cDNA不推荐采用加热的方法失活BeyoRT™ M-MuLV反转录酶(RNase H-), 这种操作可能会导致部分长片断DNA被剪切。
  - 反转录产物可以直接用于后续的PCR等反应, 也可以-20°C冻存以备以后使用。用于后续PCR反应时, 如果PCR的反应体系为50微升, 则推荐使用2微升反转录产物。
2. 其他用途请自行参考M-MuLV反转录酶(RNase H-)的相关文献资料进行。

### 常见问题:

- RNA反转录产物电泳观察不到。  
反转录产物由于是从模板反转录而获得, 而模板的量本身比较低, 反转录的量通常还要少于模板量, 因此通常RNA的反转录产物直接电泳观察是观察不到的。
- 反转录产物通过PCR扩增没有特异性条带。  
PCR扩增没有获得特异性条带时建议先使用actin、GAPDH等作为内参进行PCR扩增, 看是否可以成功扩增。如果可以成功, 则说明PCR扩增体系没有问题, 此时通常是目的基因的引物设计欠佳, 当然也有可能是反转录产物质量欠佳。如果内参不能被很好地扩增, 则有可能PCR体系存在问题或反转录产物质量欠佳。

### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7153	BeyoRT™ M-MLV反转录酶	2000U
D7159	BeyoRT™ M-MLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7160	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	2000U
D7161	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	10KU
D7162	BeyoRT™ II M-MLV反转录酶(RNase H-)	50KU
D7166	BeyoRT™ cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	10次
D7167	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	20次
D7168	BeyoRT™ II cDNA第一链合成试剂盒(RNase H-)	100次
D7172	cDNA第二链合成试剂盒	10次
D7205	Taq DNA Polymerase	200U
D7207	Taq DNA Polymerase	1000U
D7216	Pfu DNA Polymerase	200U
D7217	Pfu DNA Polymerase	1000U
D7218	BeyoTaq DNA Polymerase	200U
D7219	BeyoTaq DNA Polymerase	1000U
D7226	GC-rich PCR Buffer(4种套装)	共2ml
D7228	2X PCR Master Mix	400次
D7232	PCR Kit with Taq	400次
D7233	PCR Kit with Taq	2000次
D7237	PCR Kit with BeyoTaq	400次
D7251	Easy-Load™ PCR Master Mix (Blue, 2X)	400次
D7255	Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X)	400次
D7259	Easy-Load™ PCR Master Mix (Orange, 2X)	400次
D7371	dNTP Mixture(2.5mM each)	1ml

D7373	dNTP Mixture(25mM each)	250μl
R0011	Beyozol(总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol(总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0102	RNase Inhibitor	2000U
ST036	DEPC	10g

#### 使用本产品的文献：

1. Ren H, Zhu F, Zheng C, Sun X, Wang W, Shu H. Transcriptome analysis reveals genes related to floral development in chrysanthemum responsive to photoperiods. *Biochem Genet.* 2013 Feb;51(1-2):20-32.
2. Bao W, Gu Y, Ta L, Wang K, Xu Z. Induction of autophagy by the MG 132 proteasome inhibitor is associated with endoplasmic reticulum stress in MCF 7 cells. *Mol Med Rep.* 2016 Jan;13(1):796-804.
3. Zhang CG, Yang SD, Zhu WJ, You BG, Liu Y, Yuan ZQ, Chen WL, Li JZ, Zhou XF, Liu C, Zhang XN. Distinctive polymer micelle designed for siRNA delivery and reversal of MDR1 gene-dependent multidrug resistance. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2016 Jul 13. doi: 10.1002/jbm.b.33748. [Epub ahead of print]
4. Li D, Chen J, Ye J, Zhai X, Song J, Jiang C5, Wang J, Zhang H, Jia X, Zhu F. Anti-inflammatory effect of the six compounds isolated from *Nauclea officinalis* Pierre ex Pitard, and molecular mechanism of strictosamide via suppressing the NF-κB and MAPK signaling pathway in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol.* 2017 Jan 20;196:66-74.

Version 2017.03.19