



北京启衡星生物科技有限公司  
BEIJING FOREVERSTAR BIOTECH CO.,LTD.

## StarLighter Script III First Strand cDNA Synthesis Kit (StarLighter Script III 第一链cDNA合成试剂盒)

产品货号	单位规格
FS-P1003	100 rxns
FS-P1003-S	20 rxns

### 产品简介:

StarLighter Script III First Strand cDNA Synthesis Kit是一款高性价比的cDNA第一链合成试剂盒。该试剂盒包含了 cDNA合成所需的所有组分：StarLighter M-MLV GIII Reverse Transcriptase、RNA酶抑制剂、dNTPs，Oligo(dT)20、随机引物，以及各种缓冲组分，各组分独立提供，可以根据实验需求进行灵活的调配。

### 产品优势:

- 逆转录产物得率更高;
- 更快获得长cDNA片段;
- 更宽的模板使用范围。

### 产品应用:

一链cDNA合成;

合成的一链cDNA可广泛应用于2nd Strand cDNA合成（文库构建）、杂交、PCR/qPCR扩增等。

## 产品组分：

组分名称	FS-P1003	FS-P1003-S	保存条件
M-MLV GIII Reverse Transcriptase (200U/μL)	100 μL (100 rxns)	20 μL (20 rxns)	-20°C
5×M-MLV First Strand Synthesis Buffer	500 μL	100 μL	-20°C
0.1M DTT	100 μL	20 μL	-20°C
StarLighter dNTP mix (10mM each)	250 μL	50 μL	-20°C
Oligo (dT) (50μM)	500 μL	20 μL	-20°C
Random Primer (50ng/μL)	100 μL	20 μL	-20°C

## 第一链cDNA合成步骤

1、根据下表推荐，依次加入以下组分：

组分	使用量
StarLighter M-MLV GIII Reverse Transcriptase (200U/μL)	1 μL
模板RNA*	200 pg- 2 μg
5×M-MLV First Strand Synthesis Buffer	4 μL
0.1M DTT	0 - 1 μL
StarLighter dNTP mix (10 mM each)	2.5μL <sup>a</sup>
Random Primer (50ng/μL)	1 μL <sup>a</sup>
Oligo (dT) (50μM)	1 μL <sup>a</sup>
RNase Free Water	Up to 20 μL

\* 推荐采用去除g DNA的RNA作为模板，2 μg以内。

a 也可以根据自己的需求进行调整。

2. 轻柔吹打混匀后，短暂离心。

3. 若使用 Oligo(dT)20VN 或 Gene Specific Primer，50 °C温育 30 min；



4. 若使用随机引物，先 25 °C 温育 5 min，之后 50 °C 温育 30 min；

注：若目的 cDNA 小于 3 kb，温育时间可缩短为 15 min。

5. 反应结束后，85 °C 温育 5 min 以终止反应；

6. 将获得的 cDNA 迅速置于冰上，用于后续实验，或立即置于 -20 °C 保存。

### 注意事项：

a. 为防止 RNase 污染，请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase Free；

b. 试剂盒提供 Oligo(dT)20 和随机引物，不仅适用于包含 Poly(A) 结构的真核生物 mRNA，也适用于不含 Poly(A) 的原核生物 mRNA，真核生物 rRNA、tRNA 等模板，但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板；

c.  $5 \times$  M-MLV First Strand Synthesis Buffer 在使用前需要小心地离心并收集到反应管底部，由于  $5 \times$  M-MLV First Strand Synthesis Buffer 的黏稠度高，使用前应确保产品已经完全融化并充分混匀；

d. 分装试剂时请使用新的枪头，以防止样品间污染；

e. 如果要使用 Gene Specific Primer 进行反转录反应，则不需要加 Oligo(dT)20 和随机引物。

### 推荐 qPCR 体系于条件

以 StarLighter SYBR Green qPCR Mix（货号 FS-Q1002）试剂 20  $\mu$ L 反应体系为例：

1. 按下列组分配制 qPCR 反应液。

组分	体积	终浓度
$2 \times$ StarLighter SYBR Green qPCR Mix	10 $\mu$ L	1 $\times$
10 $\mu$ M Forward Primer	0.5 - 1 $\mu$ L	250 - 500nM
10 $\mu$ M Reverse Primer	0.5 - 1 $\mu$ L	250 - 500nM
cDNA 模板 <sup>1</sup>	按需	<20 ng
$50 \times$ ROX Low/High <sup>2</sup>	0.4 $\mu$ L	1 $\times$
H <sub>2</sub> O (PCR 级)	补齐至 20 $\mu$ L	N/A
总体积	20 $\mu$ L	N/A

1 建议 20  $\mu$ L 反应液中使用相当于 4 pg-40 ng Total RNA 量的 cDNA 为模板。反转录反应液的加入量不超过 qPCR 反应液总体积的 10%；

2 根据仪器需要选择相应的 ROX Low 或 ROX High。



## 2. Real Time PCR反应程序参考下表设置。

步骤	温度	时间	循环数
酶激活	95°C	3 min <sup>1</sup>	1
变性	95°C	10 - 30sec	35 - 40
退火/延伸 <sup>2</sup>	60°C	≥ 20sec <sup>2</sup>	
熔解曲线	根据仪器使用说明设置		

1 95°C ,20秒足以激活DNA聚合酶活性,但是对于复杂模板的变性可以延长至3分钟。

2 选择适合仪器的最短退火/延伸时间,但不能少于20秒,对于3步法,根据仪器指南,在最佳的退火温度下退火20秒,然后以最短时间在72°C进行数据采集。

北京启衡星生物科技有限公司

地址:北京市昌平区生命园西环路21号楼南楼三层

网址: [www.qihengxing.com](http://www.qihengxing.com)

电话: 010-62149251

邮箱: [sales@qihengxing.com](mailto:sales@qihengxing.com) [marketing@qihengxing.com](mailto:marketing@qihengxing.com)

[support@qihengxing.com](mailto:support@qihengxing.com)



扫码关注

了解更多产品信息

本产品仅供研究,不做为临床诊断使用

版本号: V1