



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