



ELK Biotechnology
For research use only.

EntiLink™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit

第一链 cDNA 合成试剂盒

货号	规格	储藏/有效期
EQ003-01	50 rxn	-20C°/三年
EQ003-02	200 rxn	-20C°/三年

产品介绍

EntiLink™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 是一套用于高效合成第一链 cDNA 的完整系统，可合成长达 13kb 的 cDNA。本品含有 gDNA Eraser，能够迅速彻底去除基因组污染。

EntiLink™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 第一链 cDNA 合成试剂盒配套提供的反转录引物为 pd(N)9 与 oligo dT₍₁₈₎ 的混合液，可反转录出样本中的各种 cDNA，适用于 mRNA、lncRNA 及 circRNA 等多种 RNA 的逆转录

该试剂盒也可用于基因特异性逆转录，如 miRNA 逆转录等。

试剂组成

组分	EP003-01	EP003-02
gDNA Eraser	50 µL	200 µL
5×gDNA Eraser Buffer	100 µL	400 µL
EntiLink™ Reverse Transcriptase	10000U	40000U
5×RT Buffer	0.5 mL	1.0 mL
RNase-Free ddH ₂ O	1.5 mL	1.5 mL
RT Primer Mix	100 µL	400 µL
dNTPs (10mM each)	50 µL	200 µL
说明书	1 份	1 份



ELK Biotechnology

For research use only.

产品特点

- 1.可以高效合成长达 13kb 的全长第一链 cDNA
- 2.可耐受高达 55°C 的反应温度
- 3.完全提供 RT 反应所需的所有组分

产品应用

- 1.cDNA 文库构建。
- 2.RT-qPCR 反应及 RT-PCR 反应。
- 3.引物延伸。
- 3.RNA 测序。

活性单位

产品浓度为 200U/ μ L。

一个活性单位 (U) 定义为: 以 Poly (A)为模板, Oligo (dT)为引物, 在 37°C 反应 10 分钟可将 1 nmole 的 dTTP 掺入酸不溶物中所需的酶量。

纯度

以考马斯蓝染色 SDS-PAGE 检测纯度大于 90%, 本品无核酸内切酶、外切酶及 RNase 污染。

用户需自备的试剂与物品

- 1.RNase-free 的 200 μ L 微型离心管
- 2.移液器及吸头 (为避免 RNA 酶的污染, 必须选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头)
- 3.一次性手套、口罩等防护用品
- 4.恒温水浴锅
- 5.在无 RNA 酶的实验室操作: 因唾液、皮肤上均含有 RNA 酶, 请在 RNA 的提取的全过程中均穿戴乳胶手套和口罩。

*可能需要 RNase Inhibitor



ELK Biotechnology

For research use only.

操作步骤

1. 去除基因组 DNA 反应 (冰上) :

试剂	使用量
5×gDNA Eraser	2.0 μL
gDNA Eraser	1.0 μL
模板 RNA	0.5-5 μg
RNaser-Free ddH ₂ O	to 10.0 μL

42°C 孵育 2min (或室温 5min)

4°C 保存

*若前期 RNA 提取过程中已进行过 gDNA 去除操作, 则此步骤可省略。

2. 反转录反应 (冰上) :

试剂	使用量
步骤 1 反应液	10.0 μL
RT Primer Mix* ¹	2.0 μL
or Gene Specific Primers (10 μM)	or 1.0 μL
dNTPs(10mM each)	1.0 μL
RNaser-Free ddH ₂ O	to 15.0 μL

混合物在 70°C 加热 5min 后, 迅速置于冰上冷却。短暂离心后, 加入以下组分:

试剂	使用量
步骤 1 反应液	
5×RT Buffer	4.0 μL
EntiLink™ Reverse Transcriptase* ²	1.0 μL
RNase Inhibitor* ³	1.0 μL

*¹ RT Primer Mix 为 oligodT 与 pd(N)9 混合液。

*² 少于 0.5μg Total RNA (比如病毒 RNA 的逆转录) 使用量时应将 EntiLink™ Reverse Transcriptase 用量减少至 0.05-0.5 μl, 否则可能会导致后续 PCR 扩增产生非特异性扩增产物。

*³ 少于 0.5 μg Total RNA 使用量时建议再加入 1μl RNase Inhibitor (Cat. No. EQ010) 。



ELK Biotechnology

For research use only.

3. 轻柔混匀，37°C保温30-60min。

注：1) 逆转录时间：可在30-60min间调整。延长逆转录时间有助于获得更长的 cDNA (>5 kb)，如若后续仅进行qPCR检测，可将逆转录时间调整为30min。

2) 逆转录温度：使用 Gene Specific Primers 逆转录时，建议温度设置为42°C。

4. 95°C加热 5 分钟后冰上冷却或储存于-20°C备用*。

*逆转录产物可立即用于后续 PCR 或 qPCR 反应，也可-20°C短期保存，若需长期保存，建议分装后，于-80°C保存，避免反复冻融。