



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

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

产品货号	单位规格
FS-P1004	100 rxns
FS-P1004-S	20 rxns

### 产品简介:

StarLighter Script IV First Strand cDNA Synthesis Kit是一款第四代M-MLV逆转录酶，可无差别合成更高产量和更长的cDNA，并耐受 55°C以上的高温，具有更快的合成速度，更宽的模板使用范围。该试剂盒包含了第一链cDNA合成所需的所有组分：StarLighter M-MLV GIV 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整。合成的第一链cDNA可以用于下游的文库构建以及PCR/qPCR检测分析。

### 产品优势:

- 逆转录产物得率更高;
- 耐高温;
- 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	FS-P1004	FS-P1004-S	储存条件
M-MLV GIV 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)	100 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	量
StarLighter M-MLV GIV Reverse Transcriptase (200U/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L
模板RNA*	200 pg- 2 $\mu$ g
5 $\times$ M-MLV First Strand Synthesis Buffer	4 $\mu$ L
0.1M DTT	0-1 $\mu$ L
StarLighter dNTP mix (10 mM each)	2.5 $\mu$ L <sup>a</sup>
Random Primer (50ng/ $\mu$ L)	1 $\mu$ L <sup>a</sup>
Oligo (dT) (50 $\mu$ M)	1 $\mu$ L <sup>a</sup>
RNase Free Water	Up to 20 $\mu$ L

\*推荐采用去除g DNA的RNA作为模板，2  $\mu$ g以内。

<sup>a</sup>可以根据自己的需要进行调整

2. 轻柔吹打混匀后，短暂离心。
3. 若使用 Oligo(dT)20VN 或 Gene Specific Primer，50 $^{\circ}$ C温育 30 min；
4. 若使用随机引物，先 25 $^{\circ}$ C温育 5 min，之后 50 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C保存。

## 注意事项

- a. 应反转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 × StarLighter SYBR Green qPCR Mix	10 μL	1 ×
10 μM Forward Primer	0.5-1 μL	250- 500nM
10 μM Reverse Primer	0.5-1 μL	250- 500nM
cDNA模板 <sup>1</sup>	按需	<20 ng
50 × ROX/High <sup>2</sup>	0.4 μL	1 ×
H <sub>2</sub> O (PCR级)	补齐至20 μL	N/A
总体积	20 μL	N/A

<sup>1</sup> 建议在 20 μL 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 PCR 反应液总体积的 10%；

<sup>2</sup> 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>	
溶解曲线	根据仪器使用说明设置		

<sup>1</sup> 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。

<sup>2</sup> 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。



启明东方 衡久未来

---

## 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)

Tel: 010-62149251

E-mail: [sales@qihengxing.com](mailto:sales@qihengxing.com) [marketing@qihengxing.com](mailto:marketing@qihengxing.com)

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



扫描关注  
了解更多产品信息  
版本号：V0