



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	100 rxn	-20C°/18个月

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，升级后的酶可耐受高达 50°C 的反应温度，适合具有复杂二级结构的 RNA 模板的逆转录。同时，该酶增强了与模板的亲合力，适合少量模板以及低拷贝基因的逆转录，可合成长达 10kb 的 cDNA。

试剂盒中包含由总 RNA 或 mRNA 合成高质量第一链 cDNA 所需的所有成分，并提供两种 cDNA 合成引物：Random Primers N6 和 oligo (dT)18，合成的单链 cDNA 产物可直接用来进行后续 PCR 或者 qPCR 反应。

试剂组成

组分	含量
RNase-Free ddH ₂ O	2×1 mL
5× Buffer	400 μL
EntiLink™ Enzyme Mix	200 μL
Oligo (dT)18 (50 μM)	100 μL
Random Primers N6 (50 μM)	100 μL
说明书	1份

【注】：1) 5× Buffer 中包含 dNTP。2) EntiLink™ Enzyme Mix 中包含 RNase inhibitor



ELK Biotechnology

For research use only.

产品特点

- 1.可以高效合成长达 10kb 的全长第一链 cDNA
- 2.可耐受高达 50°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。

注意事项

1. 反应液的配制应在冰上操作完成，操作过程应避免 RNase 污染。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

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。



ELK Biotechnology
For research use only.

操作步骤

1. 逆转录反应体系配制 (20 μ L 体系)

组分	使用量
Total RNA	1 ng -5 μ g*
or mRNA	1 ng-500 ng*
5 \times Buffer	4 μ L
Random Primers N6 (50 μ M)	1 μ L
or Oligo (dT)18 (50 μ M)	or 1 μ L
or Gene Specific Primers (2 μ M)	or 1 μ L
EntiLink™ Enzyme Mix	2 μ L
RNase-free H ₂ O	To 20 μ L

【可省略】：若后续实验为PCR，**针对复杂模板**，可将RNA、H₂O、反转录引物在65°C孵育5 min 后，迅速冰上冷却，然后再加入 EntiLink™ Enzyme Mix；若后续实验为 qPCR，则可省略 65°C 孵育步骤，直接在体系中加入 EntiLink™ Enzyme Mix。

【注】：* 若后续实验为 qPCR，建议 Total RNA 或 mRNA 投入量不超过 1 μ g 或 100 ng，如果目的基因的表达丰度非常低，最多可投入 5 μ g Total RNA 或 500 ng mRNA。

2. 逆转录程序设置

温度	时间
25°C	5 min
42°C	30 min
85°C	5 min

【注】：1) 荧光定量实验可以只使用 Random Primers N6；也可以 1:1 与 Oligo (dT)18 混合使用，效果更好。

2) 逆转录温度：推荐使用 42°C。对于高 GC 含量模板或者复杂模板，可将逆转录温度提高到 50°C。

3) 逆转录产物可以 -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。



ELK Biotechnology
For research use only.

关于引物的选择

- 1) 如果模板为真核生物来源，建议选择Oligo (dT)18，与真核生物mRNA的3' PolyA尾配对，可获得最高产量的全长cDNA。
- 2) 原核生物RNA的反转录请选用Random Primers N6或者基因特异性引物。
- 3) Random Primers N6适用性较广，mRNA、rRNA、tRNA、small RNA和LncRNA等模板均可用Random Primers N6进行反转录。
- 4) 使用Random primers N6，进行2 kb以下的cDNA合成时，Random primers N6的使用量为1-2 μL ；2 kb以上的cDNA合成时，Random primers N6的使用量为0.4-1 μL 。