

Integrated First-strand cDNA Synthesis Kit

(OneStep gDNA Remover)

货号：DN2212

保存：-20 °C

【产品简介】

本产品采用了第三代反转录酶，进一步提高了热稳定性和反转录效率。5X Integrated RT MasterMix 是一个即用型试剂，含有合成第一链 cDNA 所需要的所有成分，只需加入模板和水即可进行反应。gDNA 污染是 RNA 提取过程中可能影响下游实验的一个重要因素，会产生假阳性信号，并影响对基因表达水平的分析，因此有效清除 gDNA 是保证实验结果精确的优良方法。试剂盒中含有的独特的 gDNA Remover 组分，只需一次操作便可完成基因组清除和逆转录反应。此步骤既简单又替代了 DNase I 消化，避免多次操作造成样品污染与 RNA 降解风险。该产品为获得高质量的 cDNA 提供了一个完美的解决方案，可用于高拷贝、低拷贝基因的检测。

【产品特点】

1. 三代反转录酶大幅度提高了热稳定性和反转录效率。
2. 全预混 Mix，操作简便，15 分钟完成反转录。
3. RNA 模板的体积最多可加到总体积的 80%，适合于低浓度 RNA 模板的逆转录反应。
4. 预混合 Mix 在 -20° C 不冻结，减少了解冻和混匀时间，使用更简单。
5. 本产品针对 qPCR 进行特别优化 oligo dT 和 N6 随机引物配比，使 cDNA 合成可从 RNA 转录本的各个区域起始 并具有相同的反转录效率，最大程度保证了 qPCR 结果的真实性和可重复性。

【产品组分】

货号	组分	试用装	DN2212-01
DN2010	5X Integrated RT MasterMix	20 µl	400 µl
DN2013	gDNA Remover Reaction Mix	5 µl	100 µl
DN2220	DEPC-dd H ₂ O	200 µl	1.5 ml

【保存条件】

-20 °C 恒温保存，保质期一年。

【注意事项】

1. gDNA 清除和反转录的实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 提取过程中 RNA 样品保存在冰上以防止 RNA 降解。
3. RNA 模板在冰上解冻。所有试剂在室温解冻，并短暂离心以收集至管底。解冻试剂置于冰上。

【使用方法】

1. 按下表在冰上进行 gDNA 清除和反转录实验（以 20 μ l 体系为例）：

组分	体积
Total RNA /mRNA	$\leq 15 \mu\text{l}^*$
5X Integrated RT MasterMix	4 μl
gDNA Remover Reaction Mix	1 μl
DEPC-dd H ₂ O	Upto 20 μl

* Total RNA 不超过 2 μg ，mRNA 不超过 200 ng (20 μ l 体系)

2. 25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min（如使用的 mRNA 模板是来源于原核细胞（细菌）或者病毒等不含 Poly (A) 尾结构，需此步骤，否则不需要），42 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15-20 min。

注意：若反转录后进行常规 PCR（克隆基因片段）扩增，42 $^{\circ}\text{C}$ 反转录时间延长至 30-50 min。

3. 85 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 sec 以终止反应。

4. 新合成的第一链 cDNA 可以直接用于下游的实验，或者 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 6 个月，-70 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存，避免反复冻融。

注：如果模板含有二级结构或高 GC 区域，可尝试将反应温度提高至 50 $^{\circ}\text{C}$ ，有助于提高产量。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。