



ExonScript RT Mix (with dsDNase) (逆转录试剂盒)

CAT. NO. ZJ0070

规格: 100T

产品介绍:

PrimerScript RT Mix是将RNA逆转录成为cDNA更为简便的操作系统,含有第一链cDNA合成所需的所有试剂,只需加入RNA模板和水即可进行逆转录反应。合成的第一链cDNA可广泛用于文库构建、第二链合成、杂交、PCR扩增、RT-qPCR检测等。试剂盒中包含新一代的逆转录酶和优化的缓冲液,与普通逆转录酶系统相比,具有逆转录能力强(合成较多全长cDNA)、无RNase H活性、热稳定性高和半衰期长等优点。该逆转录酶产物具有得率更高,获得的cDNA片段更长,模板使用范围更广等特点。试剂盒中包含逆转录反应buffer、dNTPs、逆转录酶、引物(Random Hexamer Primer/Oligo dT Primer), Ribonuclease inhibitor和DNase,分别分布在两管中,以简化加样步骤。试剂盒中含有的新型DNase,能够特异性去除双链DNA,而不消化RNA样品、逆转录引物及合成的cDNA,并且具有热敏感性,可在55°C快速不可逆失活,实现去除基因组污染与逆转录反应的同步进行。

- 高热稳定性, 反应温度42-55°C, 有助于RNA二级结构打开
- 逆转录能力强、cDNA合成得率高, 片段更长
- 无RNase H活性, 避免第一链cDNA合成过程中DNA/RNA杂交体中模板RNA被降解, 从而保证第一链cDNA合成量和长度
- 去除基因组DNA, 保证定量结果更加准确
- 操作简便, 仅需加入RNA模板和水即可进行逆转录反应
- 合成片段≤15 kb

适用范围:

- cDNA合成及文库构建
- PCR扩增
- RT-qPCR检测

产品组分:

组分	体积
4 x gDNA Removal Mix	500μL
4 x Supreme Enzyme Mix	500μL
DEPC - Treated H ₂ O	1mL

【第一链cDNA合成】

1. 在RNase-free离心管中配制如下混合液，轻轻混匀并瞬离以下成分：

组分	体积
10 pg- 1 μ g Total RNA or 10 pg-500 ng mRNA *1	As Required
4 x gDNA Removal Mix *2	5 μ l
4 x Supreme Enzyme Mix	5 μ l
DEPC-Treated H ₂ O	up to 20 μ l

*1: 为保证逆转录成功，请使用高质量RNA模板。

*2: 所有试剂在使用前需充分混匀。

2. 按照下列条件进行第一链合成反应

温度	时间
37 $^{\circ}$ C	5min
55 $^{\circ}$ C	15min
85 $^{\circ}$ C	30s

推荐使用磁珠法RNA提取试剂盒(更少基因组污染)

3. 产物经稀释后可立即用于PCR或qPCR反应，或在-20 $^{\circ}$ C保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在-70 $^{\circ}$ C保存。cDNA应避免反复冻融。

注意事项：

1. 整个实验过程中佩戴一次性口罩和手套，使用的吸头、塑料制品必须用无RNA酶级别；
2. 85 $^{\circ}$ C, 30s, 为逆转录酶灭活步骤(推荐程序)；
3. cDNA产物可以在-20 $^{\circ}$ C储存或立即用于PCR反应；
4. 因为反转录酶对PCR有抑制作用，用于PCR反应的cDNA产物体积建议不超过PCR反应体积的1/10，建议将cDNA稀释5-10倍后用于定量检测。