

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01011

产品介绍

一管化 RT Mix with DNase 是一个将 RNA 合成 cDNA 的操作更为简便的系统, 含有第一链 cDNA 合成所需的全部试剂, 仅需加入 RNA 模板和水即可进行逆转录反应, 操作非常方便。使用该逆转录预混液 15 min 内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA。合成的 cDNA 推荐用于 qPCR 反应。

该预混液采用特制的高效 DNase, 该酶具有热敏感性, 可在高温条件下快速不可逆地失活, 因此仅需一次加样, 即可同管进行去除基因组 DNA 污染与逆转录反应, 与使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染相比, 无需额外加入 EDTA 进行失活, 不仅减少了对 RNA 模板的损伤、降低 RNase 污染风险而且节省实验时间。

应用范围

转录组研究

储运条件

-20 °C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

迅速高效: 第三代特制的高效 DNase, 反转速度快, 15 min 内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA;

操作简便: 含有第一链 cDNA 合成所需的全部试剂, 仅需一次加样且“一管化”操作。

注意事项

1. RNA 模板的纯度和完整性是影响逆转录效果的重要因素, 如模板中含有蛋白、EDTA、酚等杂质会使 RNA 降解。
2. 若后续实验为 qPCR, 逆转录产物的加量应不超过 qPCR 体系终体积的 1/10, 如 20 μ L 的 qPCR 反应体系, 逆转录产物的加量应不超过 2 μ L。
3. 预混液中已经包含 Oligo(dT)20VN 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) 结构的原核生物 RNA、真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板, 但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。
4. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材: 0.2 mL EP 管
2. 试剂: RNA
3. 仪器: PCR 仪

操作步骤

1. 在冰浴的无核酸酶的离心管中配制下列逆转录体系

组分	体积
5 $\times$ 一管化 RT Mix with DNase	4 μ L
DNase	1 μ L
模板 RNA	50 ng~1 μ g
RNase-free water	加至 20 μ L

注: 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

2. 轻轻混匀, 瞬时离心 (使液体沉于底部)。

3.在 PCR 仪上进行下列条件的反应

- (1) 37 °C 温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染。
- (2) 55 °C 温育 15 min。
- (3) 85 °C 孵育 5 min, 以终止反应。

4.将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于 -20 °C, 用于后续实验。