



## EX RT kit(gDNAremover)

第一链反转录试剂盒 (gDNAremover)

版本 2021-07

Catalog # ZR108

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZR108-1	EX RT kit (gDNAremover)	25T
<input type="checkbox"/> ZR108-2	EX RT kit (gDNAremover)	50T
<input type="checkbox"/> ZR108-3	EX RT kit (gDNAremover)	200T

Store at -20°C

### 产品组成:

组成	ZR108-1	ZR108-2	ZR108-3
	25次	50次	200次
1 5×gDNA digester Mix	80μl	160μl	640μl
2 4×RT Mix (gDNA)	130μl	260μl	1040μl
3 ddH <sub>2</sub> O (treated by DEPC, Streile)	1 ml	1 ml	1.5 ml×2
4 产品使用说明书	一份	一份	一份

### 产品介绍:

本产品以RNA为模板,以RT Mix 高效合成第一链cDNA,操作简便,降低了操作过程中的污染机率。5×gDNA digester Mix 可去除RNA模板中残留的基因组 DNA 污染,保证后续结果更加可靠。

RT Mix中无RNase H活性,避免了cDNA合成反应中RNA/DNA杂合体中模板RNA被降解;耐热温度高,具有更强的延伸能力和稳定性,可用于较长的cDNA合成以及高比例的全长cDNA文库的构建等。

### 适用范围:

可用于低拷贝基因的检测,产物用于RT-PCR、荧光定量PCR。

### 特点:

pg级RNA反转录,可以合成较长cDNA片段。

去除RNA模板中残留的基因组DNA污染。



使用:

1. 残留基因组 DNA 去除

1) 在 RNase free 离心管中配制如下混合液。

Components	Volume (15 $\mu$ l 体系)
Total RNA/mRNA	X $\mu$ l (50 ng-5 $\mu$ g/5-500 ng)
5 $\times$ gDNA digester Mix	3 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	(12-X) $\mu$ l

2) 轻轻混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 min。

2. 逆转录反应体系配制 (20  $\mu$ L 体系)

1) 在第 1 步的反应管中直接加入 4 $\times$ RT Mix。

Components	Volume(20 $\mu$ l 体系)
上一步的混合液	15 $\mu$ l
4 $\times$ RT Mix (gDNA)	5 $\mu$ l

2) 轻轻混匀, 45 $^{\circ}$ C 孵育。

备注: 产物用于 qPCR, 45 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟; 产物用于 PCR, 45 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟; 如果目的片段在 4Kb 以上, 建议 45 $^{\circ}$ C 孵育 50min。

3) 85 $^{\circ}$ C 灭活 5 分钟, 得到 cDNA。该产物可直接用于第二链的合成或 RT-PCR 扩增反应, 保存请置于 -20 $^{\circ}$ C。

建议 PCR 条件(以 50  $\mu$ l 反应体系为例)

Components	Volume & Final Concentration	Final Concentration
cDNA Template	1-4 $\mu$ l (As Required)	94 $^{\circ}$ C 2-5 min
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l (0.2 $\mu$ M each)	94 $^{\circ}$ C ↓ 30 sec
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l (0.2 $\mu$ M each)	50-60 $^{\circ}$ C 30 sec
10 $\times$ Taq Buffer (含 Mg <sup>2+</sup> )	5 $\mu$ l (1 $\times$ )	72 $^{\circ}$ C 1-2 kb/min
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l (0.2 mM)	30-40 cycles
Taq DNA Polymerase	0.5 $\mu$ l (2.5 units)	72 $^{\circ}$ C ↓ 5-10 min
ddH <sub>2</sub> O to final volume	50 $\mu$ l (Not applicable)	

注意事项:

- cDNA 模板中的部分试剂对 PCR 有抑制, 所以不是 cDNA 越多越好。
- 为保证反转录成功建议使用高质量的 RNA 样品。
- 如果 RNA 模板 GC 含量丰富或者有复杂的二级结构, 可以先只加 RNA 模板和 RNase Free H<sub>2</sub>O 混匀, 65 $^{\circ}$ C 变性 5min, 冰上冷却 30s, 短暂离心后开始上述实验步骤。一般情况下失败后, 考虑试用此方法。