

**EX RT kit(gDNA remover)**

第一链反转录试剂盒 (gDNA remover)

版本 2024-08

Catalog # ZR108

目录编号	产品名称	包装单位
☐ ZR108-2	EX RT kit (gDNA remover)	50T(20μl体系)
☒ ZR108-100T	EX RT kit (gDNA remover)	100T(20μl体系)
☐ ZR108-3	EX RT kit (gDNA remover)	200T(20μl体系)

Store at -20°C

产品组成:

组成	ZR108-2 50次	ZR108-100T 100次	ZR108-3 200次
1 5×gDNA digester Mix	160μl	320μl	640μl
2 4×RT Mix (gDNA)	260μl	520μl	1040μl
3 ddH ₂ O (treated by DEPC, Streile)	1 ml	1.5 ml	1.5 ml×2
4 产品使用说明书	一份	一份	一份

产品介绍:

本产品为以RNA为模板高效合成第一链cDNA的试剂盒，操作简便，降低了操作过程中的污染机率。产品使用经过升级改造的M-MLV酶，该酶具有宽广的工作温度和超高的热稳定性，最佳反应温度为50°C，可在37°C-65°C的温度范围内工作；并且无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；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。

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。

适用范围:

可用于低拷贝基因的检测，普通RT-PCR，荧光定量RT-PCR等。

特点:

去除RNA模板中残留的基因组DNA污染。

快速长片段反转录，15min最长反转录12kb。

pg级RNA反转录，可以合成较长cDNA片段。

使用说明:

以20 μ l反应体系为例, 可按比例放大或缩小反应体系。

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 μ l 体系)
Total RNA/mRNA	X μ l (50 ng-5 μ g/5-500 ng)
5 $\times$ gDNA digester Mix	3 μ l
ddH ₂ O	(12-X) μ l

2) 轻轻混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 min。

2. 逆转录反应体系配制 (20 μ L 体系)

1) 在第 1 步的反应管中直接加入 4 $\times$ RT Mix。

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

2) 轻轻混匀, 50 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟。

备注: 对于高 GC 含量或具有复杂二级结构的 RNA 模板, 可适当升高温度 ($\leq 65^{\circ}$ C) 和延长时间 (≤ 30 min)。

3) 85 $^{\circ}$ C 灭活 30 秒, 得到 cDNA。该产物可直接用于第二链的合成或 PCR 扩增反应, 保存请置于 -20 $^{\circ}$ C。

建议 PCR 条件(以 50 μ l 反应体系为例, 可按比例放大或缩小反应体系)

Components	Volume & Final Concentration	Final Concentration	
cDNA Template	1-4 μ l (As Required)	95 $^{\circ}$ C	3 min
Forward Primer (10 μ M)	1 μ l (0.2 μ M each)	95 $^{\circ}$ C	15 sec
Reverse Primer (10 μ M)	1 μ l (0.2 μ M each)	TM-3 $^{\circ}$ C	15 sec
K5 HiFi 2 $\times$ PCR Master Mix	25 μ l (1 $\times$)	72 $^{\circ}$ C	15-30sec/kb
ddH ₂ O to final volume	补至 50 μ l	72 $^{\circ}$ C	3 min

} 25-40 cycles

注: 荧光定量 PCR 条件参见荧光定量 Mix (ZF501-ZF503) 说明书。

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。