

SmArt First Strand cDNA Synthesis Kit(4x)(+gDNA Remover)

产品描述

本产品是一种高效、稳定 cDNA 第一链合成试剂盒。该试剂盒中 5x gDNA wiper Mix 包含一种新型双链特异性热敏 DNase (HL-DNase)，可在 2 分钟内从 RNA 制备中去除污染的基因组 DNA，而不会对 RNA 质量或数量造成损坏。针对双链 DNA 的高度特异性 HL-DNase 活性确保单链 DNA (如 cDNA 和引物) 不会被切割，HL-DNase 处理的 RNA 可直接添加至逆转录反应中。4x RT Mix 包含反转录所需要的所有组分，只需要添加 RNA 模板和 RNase-free ddH₂O 即可进行反转录反应。其中包含 RNase inhibitor 可以有效抑制 RNaseA、B、C，减少了 RNA 的降解，可保证低浓度模板的反转录效率。4x RT Mix 中包含的逆转录酶，具有更强的 RNA 亲和力和热稳定性，可以直接在 55°C 进行逆转录反应。减少操作过程，缩短时间。合成效率高，反应可在 15 分钟内完成。

产品组份

组分	100 T
5 x gDNA Wiper Mix	300 µL
4x RT Mix ^a	500 µL
RNase-free ddH ₂ O	1 mL

a. 包含 dNTPs, RNase inhibitor

保存条件

≤0°C 运输，-30 ~ -15°C 保存，有效期 2 年。

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物 RNA 的逆转录反应，逆转录产物兼容染料法和探针法 qPCR。

产品特点

- 1、具有更高的 cDNA 合成效率。
- 2、宽广的 cDNA 温度合成范围 (42-60°C)。
- 3、可适用于 GC 含量高，二级结构复杂的模板。

注意事项

- 1、防止 RNase 污染：请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase-free。
- 2、在冰上操作，防止发生 RNA 降解。
- 3、试剂解冻后需要进行混匀后离心后置于冰上操作。
- 4、试剂使用前需要短暂离心。

需准备的材料

材料

- RNase-free 1.5 mL 离心管、0.2 mL PCR 管、移液器吸头。
- 移液器、PCR 仪、冰或移动冰盒。

RNA

- 高质量的 RNA 对于获得高质量的 cDNA 至关重要。实验前请用电泳验证 RNA 的完整性。

实验流程

1. 基因组 DNA 去除

5 x gDNA Wiper Mix	3 μ L
Total RNA	10 pg-5 μ g
or Poly A+ RNA	10 pg-500 ng
RNase-free ddH ₂ O	补足到 15 μ L

在 RNase-free 离心管中用移液器轻轻吹打混匀。25°C , 2 min。

2. 配制第一链 cDNA 合成反应液

在第 1 步的反应管中直接加入 4 $\times$ RT Mix

4 x RT Mix ^a	5 μ L
第 1 步的反应液	15 μ L

用移液器轻轻吹打混匀。

3. 进行反转录反应

温度	时间
25°C	5 min
55°C	5 ~ 30 min*
85°C	5 min

*可以根据后续实验目的灵活调节逆转录时间，qPCR 5 ~ 15 min，PCR 15 ~ 30 min。

产物可立即用于 PCR 或 qPCR 反应，或在 -20°C 保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在 -70°C 保存。cDNA 避免反复冻融。

本产品仅作科研用途