ReScript™ II RT All-in-One Mix (with dsDNase)

目录号

R701 (100 xrn)

储运条件

-20°C

产品组成

Component	R701 (100 xrn)
ReScript™ II 5x RT All-in-One Mix	2x 200 µl
ReScript™ dsDNase	100 µl
RNase Free H ₂ O	2x 1 ml

产品简介

ReScript™ II RT All-in-One Mix (with dsDNase) 是基于 ReScript™ II Reverse Transcriptase 的第一链 cDNA 合成试剂盒, 包含 ReScript™ II Reverse Transcriptase 及其反应 Buffer、RNase Inhibitor、dNTPs、Oligo(dT)20VN 和随机引物等第一链 cDNA 合成所需的所有组分, 仅需加入 RNA 模板和水即可开始反应。使用该逆转录试剂盒获得的 cDNA, 下游可用于 qPCR、普通 PCR 等实验。

RNA 中存在的基因组 DNA 污染, 如果反转录前不做去除处理, 下游进行 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时进行扩增, 尤其是引物设计在同一外显子上时。本试剂盒采用 dsDNase 高效去除基因组 DNA 污染, 区别于常规的 DNase I, dsDNase 能够特异性的消化双链 DNA (dsDNA 以及 DNA 与 RNA 的杂合链), 并且具有热敏感性, 可在高温条件下快速不可逆地失活。与传统使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染的方法相比, dsDNase 无需额外加入 EDTA 进行失活, 不仅节省实验时间, 而且降低了对逆转录反应的抑制。ReScript™ II RT All-in-One Mix (with dsDNase)作

为升级后的第一链 cDNA 合成试剂盒, 15 分钟内最长可获得 12 kb cDNA。

操作步骤

准备 0.2 ml PCR 管、移液器及吸头、PCR 仪、冰或冰盒

第一链 cDNA 合成

a) 于冰上配制如下反应体系:

组分	体积
模板 RNA	50 ng-1 µg
ReScript™ II 5x RT All-in-One Mix	4 µl
ReScript™ dsDNase	1 µl
RNase Free H ₂ O	To 20 µl

- 轻柔吸打混匀, 瞬离;
- 37°C 温育 2 min, 以去除基因组 DNA 污染;
- 55°C 温育 15 min;
- 反应结束后, 85°C 温育 5 min, 以终止反应;
- 将获得的 cDNA 置于冰上用于后续实验, 或在 -20°C 保存, 并在半年内使用; 长期存放建议分装后在 -80°C 保存。cDNA 应避免反复冻融。

注意事项

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 (**miRNA 模板推荐使用 R718 进行反转录**)。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。Version 06/2019