



## EX RT kit(gDNAremover)

第一链反转录试剂盒 (gDNAremover)

Catalog # ZR108

版本 2024-09

目录编号	产品名称	包装单位
<input type="checkbox"/> ZR108-100T	EX RT kit (gDNAremover)	100T
<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	ZR108-100T	ZR108-2	ZR108-3
	100次	50次	200次
1 5×gDNA digester Mix	320μl	160μl	640μl
2 4×RT Mix (gDNA)	520μl	260μl	1040μl
3 ddH <sub>2</sub> O (treated by DEPC, Streile)	1.5 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 $\downarrow$ 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 $\downarrow$ 1-2 kb/min
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l (0.2 mM)	30-40 $\downarrow$ 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、引物和RNase Free H<sub>2</sub>O混匀, 65 $^{\circ}$ C变性5min, 冰上冷却30s, 短暂离心后加入其它成分继续下面的反转录步骤。一般情况下失败后, 考虑试用此方法。