

ExonScript RT Mix (with dsDNase) 逆转录试剂盒（带去基因组） 使用说明书

【产品名称】

ExonScript RT Mix (with dsDNase)

货号: HC0858

规格: 100T

【产品介绍】

ExonScript RT Mix是将RNA逆转录成为cDNA更为简便的操作系统，含有第一链cDNA合成所需的所有试剂，只需加入RNA模板和水即可进行逆转录反应。合成的第一链cDNA可广泛用于文库构建、第二链合成、杂交、PCR扩增、RT-qPCR检测等。试剂盒中包含新一代的逆转录酶和优化的缓冲液，与普通逆转录酶系统相比，具有逆转录能力强(合成较多全长cDNA)、无RNase H活性、热稳定性高和半衰期长等优点。该逆转录酶产物具有得率更高，获得的cDNA片段更长，模板使用范围更广等特点。5×Reaction Mix包含逆转录反应所需的缓冲液，dNTPS及优化的逆转录引物，Supreme Enzyme Mix包含ExonScript Reverse Transcriptase，Ribonuclease Inhibitor和dsDNase，以简化加样步骤。试剂盒中含有的新型dsDNase，能够特异性去除双链DNA，而不消化RNA样品、逆转录引物及合成的CDNA，并且具有热敏感性，可在55℃快速不可逆失活，实现去除基因组污染与逆转录反应的同步进行。

- 高热稳定性，反应温度42-55℃，有助于RNA二级结构打开
- 逆转录能力强、CDNA合成得率高，片段更长
- 无RNase H活性，避免第一链cDNA合成过程中DNA/RNA杂交体中模板RNA被降解，从而保证第一链cDNA合成量和长度
- 去除基因组DNA，保证定量结果更加准确
- 操作简便，仅需加入RNA模板和水即可进行逆转录反应
- 合成片段≤15 kb

【适用范围】

- cDNA合成及文库构建
- PCR扩增
- RT-qPCR检测

【产品组分】

组分	体积
5×Reaction Mix ^{*1}	400 μl
Supreme Enzyme Mix ^{*2}	300 μl
DEPC-Treated H ₂ O	2x1ml

*1:包含Buffer、dNTPs、Random Hexamer Primer/Oligo (dT)₂₀ Primer Mix.

*2:包含ExonScript Reverse Transcriptase、Ribonuclease Inhibitor和dsDNase.

【第一链cDNA合成】

1.在RNase-free离心管中配制如下混合液，轻轻混匀并瞬离以下成分：

组分	体积
10 pg-5 µg Total RNA or 10pg-500 ng mRNA ^{*3}	As Required
5×Reaction Mix ^{*4}	4 µl
Supreme Enzyme Mix	3 µl
DEPC-Treated H ₂ O	up to 20 µl

*3：为保证逆转录成功，请使用高质量RNA模板。

*4：5×Reaction Mix在使用前需充分混匀。

2.按照下列条件进行第一链合成反应

2.1推荐程序：

温度	时间
25°C	10min
55°C	15min
85°C	5min

2.2极速程序:(基因组污染不严重情况下,可使用该程序)

温度	时间
25°C	2min
55°C	15min

推荐使用磁珠法RNA提取试剂(更少基因组污染)

3.产物经稀释后可立即用于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应避免反复冻融。

【注意事项】

1. 整个实验过程中佩戴一次性口罩和手套，使用的吸头、塑料制品必须用无RNA酶级别；
2. 85°C 5min为逆转录酶灭活步骤(推荐程序)：
3. cDNA产物可以在-20°C储存或立即用于PCR反应：
4. 因为反转录酶对PCR有抑制作用，用于PCR反应的CDNA产物体积建议不超过PCR反应体积的1/10，建议将CDNA稀释5-10倍后用于定量检测。

【声明】

仅用于科研使用，不能用于临床诊断和治疗。

