

1st Strand cDNA Synthesis SuperMix

(gDNA digester plus, for qPCR)

一链 cDNA 合成反转录预混液 (含 gDNA 消化, 用于 qPCR)

产品简介

本产品为以 RNA 模板合成一链 cDNA 的经典反转录即用型预混液。产品中所含的核心逆转录酶, 经过有效的技术改造, 具有优异的热稳定性和模板亲和力, 可耐受高达 60°C 的反应温度, 适合具有复杂二级结构的 RNA 模板、少量模板以及低拷贝基因的逆转录。另外, 本产品中含有 gDNA 消化组分, 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。

本产品反转录产物, 可用于下游 qPCR 应用。推荐搭配: 通用多重 qPCR 探针法预混液 (Cat#N132041)、通用 qPCR 染料法预混液 (Cat#N132031) 或可示踪 qPCR 染料法预混液 (Cat#N132034、Cat#N132035、Cat#N132036) 进行高性能的基因表达分析。

产品规格

产品货号	N132061E	N132061S
产品规格	10 T	100 T

产品组分

组分编号	组分名称	N132061E	N132061S
N132061-A	RNase-free H ₂ O	1 mL	2×1 mL
N132061-B	5×gDNA Digester Mix	30 μL	320 μL
N132061-C	4×cDNA Synthesis SuperMix	50 μL	500 μL

【注】: C 组分 4×cDNA Synthesis SuperMix 中含有 gDNA Digester 终止剂。

产品储存

冰袋运输。-20°C 保存。有效期 18 个月。

操作注意

1. B 组分 5×gDNA Digester Mix 和 C 组分 4×cDNA Synthesis SuperMix 中均含有高浓度的甘油, 使用前请短暂离心收集到反应管底部, 并用移液枪轻轻吸打充分混匀后, 准确吸取。
2. 如果加入 RNA 模板体积较大 (如超过 2 μL), 请确保 RNA 是溶于水而不是 TE 中, 因为 TE 会对 gDNA 去除以及反转录产生抑制。
3. 可以不经基因组去除步骤, 直接用 C 组分 4×cDNA Synthesis SuperMix 进行逆转录。
4. 反应液的配制应在冰上操作完成, 操作过程应避免 RNase 污染。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

6. 本产品仅作科研用途!

操作说明

1. 残留基因组 DNA 去除

在 RNase free 离心管中配制如下混合液, 用移液器轻轻吹打混匀。42°C 孵育 2 min。

组分	使用量
RNase Free H ₂ O	To 15 μ L
5 \times gDNA Digester Mix	3 μ L
Total RNA or mRNA	RNA: 10 pg-5 μ g mRNA: 10 pg-500 ng

【注】: 20 μ L 逆转录反应体系建议 Total RNA 的投入量不超过 1 μ g。如果目的基因的表达丰度低, 最多投入 5 μ g Total RNA, 否则 RNA 投入量过高, 可能会超过后续定量 PCR 的线性范围。

2. 反转录体系配置

在第 1 步反应管中直接加入 4 \times cDNA Synthesis SuperMix, 用移液器轻轻吹打混匀。

组分	使用量
第 1 步反应液	15 μ L
4 \times cDNA Synthesis SuperMix	5 μ L

3. 反转录程序设置

1) 标准程序

温度	时间
25°C	5 min
55°C	15 min
85°C	5 min

【注】: 反转录温度推荐使用 55°C。对于高 GC 含量模板或者复杂模板, 可将反转录温度提高到 60°C。

2) 快速程序【适用于 GC 含量 \leq 55%的模板或者简单模板】

温度	时间
55°C	15 min
85°C	5 sec

【注】: 逆转录产物可立即用于 qPCR 反应, 也可-20°C 短期保存, 若需长期保存, 建议分装后, 于-80°C 保存, 避免反复冻融。