HiFiScript gDNA Removal cDNA Synthesis Kit

货号	规格
AD501A	100 次

适用范围:

cDNA 合成

组分：

gDNA Eraser	50ul
10×gDNA Eraser Buffer	120ul
HiFiScript，200U/ul	100ul
5×ScriptRT Buffer	500ul
Primer Mix	120ul
Rnase-free Water	2ml

保存条件：-20℃保存

产品简介

本产品是用于去除基因组 DNA 进行反转录的试剂盒。该试剂盒在 42℃，2 分钟即可除去基因组 DNA。同时由于反转录试剂中含有抑制 gDNA Eraser 的组分，经过 gDNA Eraser 处理后的样品可以直接进行逆转录反应合成 cDNA。本试剂盒配有新型高效反转录酶 HiFiScript，新颖突变位点大幅提升酶的转录活性，cDNA 第一链合成的效率和产量更高，可利用 pg 级的总 RNA 或 mRNA 合成 cDNA 第一链。如逆转录产物 cDNA 用于下游荧光定量检测，可在 42℃，15 分钟完成逆转录反应。本试剂盒适用于第一链 cDNA 的合成和后续的 RT-PCR、RT-qPCR、以及全长 cDNA 文库的构建等。

产品特点

1．快速去除基因组：含有去除基因组 DNA 的 gDNA Eraser，只需 2 分钟即可除去基因组 DNA。

2．快速逆转录：15 分钟即可获得荧光定量 PCR 模板 cDNA 第一链合成。

3．灵敏度高：可利用 pg 级总 RNA 或 mRNA 模板合成 cDNA 第一链。

4．高效的逆转录效率：新颖突变位点大幅提升酶活性能，获得更高产量的 cDNA。

注意事项

1．在操作过程中应避免 Rnase 污染，防止 RNA 降解或实验中的交叉污染，建议操作人员带口罩和一次性手套并经常更换手套，使用专门的仪器和耗材。

2．逆转录体系配制在冰上进行操作，防止 RNA 发生降解。试剂盒的酶使用后尽快置于-20℃保存，并尽量避免反复冻融。

3．反应体系可倍比放大，10ul 反应体系可最大使用 1ug 总 RNA。

4．Primer Mix 由 Oligo(dT)和 Random primer 配制而成，也可根据实验需要选用 Oligo-dT Primer 或 Gene Specific Primer。

5．若起始 RNA 的量小于 50 ng，建议加入 RNA 酶抑制剂。本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

6．对于二级结构复杂的 RNA 模板，建议在操作步骤之前，将模板 RNA 在 65℃孵育 5 分钟立刻置于冰上，短暂离心后进行下一步操作。

使用方法

将模板 RNA 在冰上解冻；试剂盒组分在室温解冻后立刻置于冰上。使用前将每种溶液涡旋振荡混匀，并经短暂离心后使用。

1. 去除基因组 DNA 反应

1）根据以下表格在冰上配制反应体系，总体积为 10ul。为了保证反应液配制的准确性，先按反应数+2 的量配制预混体系，然后再分装到每个反应管中，最后加入 RNA 样品。

试剂	10ul 反应体系
10×gDNA Eraser Buffer	1 ul
gDNA Eraser	0.5 ul
RNA Template	10 pg-1ug
Rnase-free Water	up to 10ul

注意：如果总RNA量大于1ug，请按比例扩大反应体系。若起始RNA的量小于50 ng，则建议加入RNA酶抑制剂。

2）涡旋震荡混匀，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

3）42℃孵育2分钟（室温反应时，可以延长到30分钟）。

4）反应结束后，短暂离心，置于冰上冷却。

2. 逆转录反应

1）根据以下表格在冰上配制反应体系，反应液配制请在冰上进行。为了保证反应液配置的准确性，先按数+2 的量配制成预混溶液，然后再分装 10ul 到每个反应管中，取配制的预混液 10ul 加入至已完成去基因组的步骤 1 反应管中。

试剂	20ul 反应体系
步骤 1 反应液	10 ul
HiFiScriptd200 U/ul	1 ul
Primer Mix	1 ul
5×ScriptRT Buffer	4 ul
Rnase-free Water	4 ul

注意：Primer Mix 可根据实验需要使用 Oligo-dT Primer 或 Gene Specific Primer，建议 20ul 反应体系 Oligo-dT Primer 50pmol，或 Gene Specific Primer 2 pmol。

2）混匀，短暂离心，使管壁上的溶液收集到管底。

3）cDNA 合成反应条件：

a. 若下游进行荧光定量 PCR 检测，42℃孵育 15 分钟，85℃孵育 5 分钟。

b. 若下游进行普通 PCR 检测，42℃孵育 30-50 分钟，85℃孵育 5 分钟。

注意：对于二级结构复杂或GC含量高的模板，可以提高逆转录温度至50℃，增强逆转录效率。

4）反应结束后，短暂离心后置于冰上，再进行后续 PCR 或荧光定量 PCR，如果需要长时间保存，请置于-20℃。

注意：进行 Real-time PCR 反应时，逆转录产物的加量应不超过 PCR 反应总体积的 1/10。