

ARScript gDNA Removal RT MasterMix

RM0021

保存条件：-20°C

产品内容

Component	RM0021S	RM0021M
	10 rxns	100 rxns
10×gDNA Remover Mix	10 µl	100 µl
5×ARScript RT MasterMix	40 µl	400 µl
RNase-Free Water	0.5 ml	1.5 ml

产品简介

本产品是用于去除基因组 DNA 进行逆转录的试剂盒，在 42°C，2 分钟即可除去基因组 DNA。同时，逆转录试剂中含有抑制 gDNA Remover 的组分，经过 gDNA Remover 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 ARScript，新颖突变位点大幅提升酶的转录活性。同时，逆转录反应只需 15 分钟即可完成 cDNA 第一链的合成。5×ARScript RT MasterMix 为逆转录预混液，包含逆转录所需全部试剂，操作方便快捷。

产品特点

- 快速去除基因组：**含有去除基因组 DNA 的 gDNA Remover，只需 2 分钟即可除去基因组 DNA。
- 快速逆转录：**15 分钟即可完成 cDNA 第一链合成。
- 方便快捷：**即用型逆转录 Mix，操作简便。
- 灵敏度高：**可利用 pg 级总 RNA 或 mRNA 模板合成 cDNA 第一链。
- 高效的逆转录效率：**新颖突变位点大幅提升酶活性，获得更高产量的 cDNA。

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。

一、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 10 μ l。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	10 μ l 反应体系
10 \times gDNA Remover Mix	1 μ l
RNA Template ¹	10 pg-1 μ g
RNase-Free Water	up to 10 μ l

注意：1) 如果总 RNA 量大于 1 μ g，请按比例扩大反应体系。

- 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 $^{\circ}$ C 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。

二、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，先按反应数+2 的量配制成预混溶液，然后再分装 10 μ l 到每个反应管中，取配制的预混液 10 μ l 加入至已完成去基因组的步骤 1 反应管中。

试剂	20 μ l 反应体系
步骤 1 反应液	10 μ l
5 \times ARScript RTMaster Mix	4 μ l
RNase-Free Water	6 μ l

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：37 $^{\circ}$ C 孵育 15 分钟，85 $^{\circ}$ C 孵育 5 秒钟。
4. 反应结束后，短暂离心后置于冰上，再进行后续反应，如果需要长时间保存，请置于 -20 $^{\circ}$ C。

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，建议操作人员戴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. 实验尽量使用一次性塑料器皿，若使用玻璃器皿，应使用 0.1% DEPC 水溶液在 37 $^{\circ}$ C 处理 12 小时，并在 120 $^{\circ}$ C 下高压灭菌 30 分钟后使用，或者将玻璃器皿在 180 $^{\circ}$ C 下干热灭菌 60 分钟后使用。实验中用到的无菌水应使用 0.1% 的 DEPC 处理后进行高压灭菌。
3. 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
4. -20 $^{\circ}$ C 保存，并尽量避免反复冻融。