

产品说明书

产品名称: UEIris II RT-PCR System for First-Strand cDNA Synthesis(with dsDNase)

产品货号: BN12028

产品规格: 20 μ L \times 20T, 20 μ L \times 100T

产品内容

组分	20 T	100 T
UEIris II RT MasterMix (5X)	80 μ L	2 \times 200 μ L
dsDNase (1 U/ μ L)	20 μ L	100 μ L
RNase-free water	400 μ L	2 \times 1 mL

* MasterMix 包含以下组分: 逆转录酶, RNA 酶抑制剂, dNTPs, buffer, Oligo(dT)₂₀ 和随机引物。

储存条件

储存于-20 $^{\circ}$ C, 有效期见外包装。

产品介绍

UEIris II RT-PCR System for First-Strand cDNA Synthesis 是将RNA合成cDNA的一个操作更为简便的系统, 含有第一链cDNA合成所需的全部试剂, 仅需加入RNA模板, dsDNase和水即可进行逆转录反应。合成的第一链cDNA可广泛应用于第二链合成、杂交、PCR扩增、Real Time PCR反应等。

UEIris II 预混液中的逆转录酶是全新开发的新一代逆转录酶。该酶具有更快的反应速度, 只需10 min即可完成逆转录反应。该逆转录酶还具有产物得率更高、获得的cDNA片段更长、模板使用范围更广等特点。

试剂盒中的dsDNase特异性消化双链DNA, 而不消化单链DNA和RNA, 并且具有热敏感性, 可在55 $^{\circ}$ C快速地不可逆失活, 实现去除基因组污染与逆转录反应同步完成。

使用方法

1. 在冰浴的无核酸酶的离心管中配制下列逆转录体系:

组分	体积
UEIris II RT MasterMix (5X)	4 μ L
模板 RNA	50 ng - 1 μ g
dsDNase	1 μ L
RNase-free water	加至 20 μ L

2. 轻轻混匀, 瞬时离心(使液体沉于底部);

3. 在PCR仪上进行下列条件的反应:

37 $^{\circ}$ C温育2分钟, 去除基因组污染

55 $^{\circ}$ C, 孵育10 min(若目标RNA小于3 kb, 可适当缩短反应时间至5 min)

85 $^{\circ}$ C, 10 sec

4. 将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于-20 $^{\circ}$ C, 用于后续实验。

注意事项

1. RNA模板的纯度和完整性是影响逆转录效果的重要因素, 如模板中含有蛋白、EDTA、酚等杂质或RNA降解。

2. 若后续实验为qPCR, 逆转录产物的加量应不超过PCR体系终体积的1/10, 如20 μ L的PCR反应体系, 逆转录产物的加量应不超过2 μ L。

3. 预混液中已经包含Oligo(dT)_{20VN}和随机引物, 不仅适用于包Poly(A)结构的真核生物mRNA, 也适用于不含Poly(A)结构的原核生物RNA、真核生物rRNA和tRNA等模板, 但不适用于miRNA等小RNA模板。