

产 品 说 明 书

UEIris II RT-PCR System for First-Strand cDNA Synthesis (with dsDNase)

产品货号: R2028S, R2028L

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

产品内容:

组分	20T	100T
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°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°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

- 轻轻混匀, 瞬时离心 (使液体沉于底部);
- 在 PCR 仪上进行下列条件的反应:
37°C 温育 2 min, 去除基因组污染
55°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°C, 10 sec
- 将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于-20°C, 用于后续实验。

注意事项

- 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。
- 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。
- 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

