



SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit with gDNA Clean User Manual

第一链 cDNA 高效逆转录 (gDNA 清除) 试剂盒使用说明书

Cat.No.**QP066** (20 RT reactions)

QP067 (60 RT reactions)

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼

邮编: 510663

电话: 4006-020-200

邮箱: sales@igenebio.com

网址: www.genecopoeia.com

www.igenebio.com

使用手册

SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit with gDNA Clean

- I. 产品介绍
- II. 试剂盒组份
- III. 实验前准备
- IV. 实验步骤
- V. 查错指南
- VI. 使用许可与质量保证

I. 产品介绍

SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit with gDNA Clean 中使用的是经基因工程改造的逆转录酶，通过降低其 RNase H 活性并增加其热稳定性，使得该酶可以在比传统 M-MLV RTase 更高的温度下合成第一链 cDNA，从而提供更高特异性和产量的 cDNA。由于基因组 DNA 会对 cDNA 的定量分析造成影响，本制品使用了具有较强 DNA 分解活性的 gDNA Clean Reagent 可除去基因组 DNA。试剂盒合成的 cDNA 产物适用于基因克隆、cDNA 文库构建，以及定量 PCR 扩增等应用。

II. 试剂盒组份

SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit（试剂盒对应货号为 QP056）组份如下表所示。

组份货号	组份	体积	储存条件
QP056-01	SureScript RTase Mix (20×)	1 × 20 µl	-20°C 至少保存 12 个月，请注意避免反复冻融
QP056-02	SureScript RT Reaction Buffer(5×)*	1 × 80 µl	-20°C 至少保存 12 个月，请注意避免反复冻融
QP066-03	gDNA Clean Reagent	1 × 20 µl	-20°C 至少保存 12 个月，请注意避免反复冻融
QP066-04	10× gDNA Clean Buffer	1 × 20 µl	-20°C 至少保存 12 个月，请注意避免反复冻融
QP006-07	ddH ₂ O (RNase and DNase free)	2 × 1 ml	-20°C 至少保存 12 个月，请注意避免反复冻融

*SureScript™ RT Reaction Buffer (5×) 包含的组份有：reaction buffer, dNTPs, oligo (dT)₁₈ and random primers。

III. 实验前准备

注意！ 在处理化学制品前，请穿戴实验服、一次性手套和护目镜。

RNA 样品准备

避免溶剂、耗材及实验器具中污染 RNase，对于 RNA 相关实验是至关重要的。在准备 RNA 样品全过程中，需要戴上口罩和手套。小心仔细的按照所选的 RNA 提取流程进行操作。实验中可购买无 RNase 的即用型试剂进行实验，或者将溶剂用 0.1% DEPC（焦碳酸二乙酯）处理后再经过高压灭菌亦可。实验器具上的 RNase 可经过 250°C 干热灭菌 3 小时灭活。包括微量离心管、移液器吸头等全部耗材用 DEPC 处理后，再经过高压灭菌以灭活 RNase 方可使用，同样可购买无 RNase 的耗材产品使用。

注意事项：

- 为保证使用效果，试剂盒保存于-20 °C，避免储存或放置于 4°C 或室温条件下。
- 轻柔颠倒离心管数次，使试剂混合均匀，避免产生泡沫，短暂离心后备用。
- 按照实验流程进行操作，避免 RNase 污染。
- 所有反应的准备过程在冰上进行，避免 RNA 的降解。
- 在设置 RT 反应之前，请阅读所有程序。

IV. 实验步骤

gDNA清除流程

1. 将试剂组份置于冰上融解，融解后轻柔混匀，短暂离心后置于冰上保存。
2. 按照下表准备 gDNA 清除反应液，补水至终体积为 10 μ l。轻柔混匀准备好的反应液，短暂离心。

混合液组份	体积	质量或 20ul 终浓度
10X gDNA Clean Buffer	1 μ l	1 \times
gDNA Clean Reagent	1 μ l	-
Total RNA 或者 poly A RNA		1 μ g 或者 10 ng
ddH ₂ O (RNase/DNase free)	补水至 10 μ l	

反应程序：37 $^{\circ}$ C 10mins；75 $^{\circ}$ C，10 mins；4 $^{\circ}$ C hold on

逆转录流程

1. 将试剂组份置于冰上融解，融解后轻柔混匀，短暂离心后置于冰上保存。
2. 按照下表准备逆转录反应液，补水至终体积为 20 μ l。轻柔混匀准备好的逆转录反应液，短暂离心。

混合液组份	体积	质量或 20ul 终浓度
SureScript RTase Mix (20 \times)	1 μ l	1 \times
SureScript RT Reaction Buffer (5 \times)	4 μ l	1 \times
第一步反应液	10 μ l	1 μ g 或者 10 ng
ddH ₂ O (RNase/DNase free)	补水至 20 μ l	

注意事项：

- 该试剂盒可检测低至 0.1 pg 的 RNA，以上表格中 RNA 质量为推荐的使用量，如果使用 Total RNA，使用量介于 10 ng ~ 5 μ g，如果使用纯化的 poly A RNA，使用量介于 1 ng ~ 100 ng。

3. 反转录反应程序设置

温度	时间
25℃	5 min
42℃	15 min*
85℃	5 min
4℃	hold

*通常，15 min 足以进行大多数 RNA 模板的逆转录反应。对于更复杂或更长的模板，可根据实际情况适当延长反应时间，一般不超过 60 min。

4. 逆转录产物无需纯化即可直接用于下一步 PCR 或 qPCR 实验，cDNA 的加入体积不能超过反应体系总体积的 1/10。

V. 查错指南

<p>没有或几乎没有产物</p>	<p>RNA 模板降解</p> <p>RNA 的质量是 cDNA 合成的关键因素。在准备 RNA 样品全过程中，需要穿上工作服、戴上口罩和手套，小心仔细地按照选择的 RNA 提取流程进行操作，使用 RNA 级的试剂和耗材。提取分离的 RNA 需用变性凝胶电泳检测质量。</p> <p>RNA 模板中含有抑制剂</p> <p>RNA 模板中的微量抑制剂（例如胍盐）会抑制 cDNA 合成。用无水乙醇重新沉淀 RNA 并用 75%乙醇洗涤沉淀。</p> <p>高 G-C 含量模板或者二级结构阻碍反应</p> <p>RT 反应前需要准备 RNA-Primer 混合液。在 PCR 反应中添加反应优化剂，例如 DMSO、甜菜碱等。</p>
<p>产物长于目的片段</p>	<p>PCR 模板中有基因组 DNA 存在。在 RT 反应前使用 DNase I 消化 DNA，设计跨内含子引物或者侧翼序列引物，以避免扩增出基因组 DNA 序列。</p> <p>扩增出错误的片段，请优化 PCR 反应条件。</p>

VI. 使用许可与质量保证

使用限制

以下条款适用于 SureScript™ First-Strand cDNA Synthesis Kit 产品。若您不能接受这些条款，请在 5 个自然日内将产品完整退还给 GeneCopoeia。产品购买者需遵守最终用户限制许可条例。本产品仅限购买者内部研究使用，不得使用于人体或诊断、治疗。未经 GeneCopoeia 事先书面同意，本产品不得转售，不得重新包装或修改后转售，不得用于生产商用产品。

质量保证

GeneCopoeia 保证产品与产品数据表中描述的规格保持一致。若经 GeneCopoeia 证实产品未达到规格要求，GeneCopoeia 将为您替换产品。若无法替换，GeneCopoeia 将退款给购买者。此质量保证仅适用于最初产品购买者。GeneCopoeia 仅负责替换产品或退还实际的购买金额。对于由使用或不正确使用产品产生的损害或使用其他相关材料和试剂产生的损耗，GeneCopoeia 不承担责任。GeneCopoeia 不提供任何形式的明示的或者默示的保证，包括对适销性、适用于特定用途的默示保证。

GeneCopoeia 致力于为消费者提供高质量的研究产品。如果您对 GeneCopoeia 的产品有任何问题或疑虑，请拨打电话 4006-020-200 联系我们。

© 2023, GeneCopoeia, Inc

GeneCopoeia, Inc.
9620 Medical Center Drive
Rockville, MD 20850
Tel: 301-762-0888 Fax: 301-762-3888
Email: inquiry@genecopoeia.com
Web: www.genecopoeia.com

广州易锦生物技术有限公司
广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路 3 号
广州国际企业孵化器 F 区 8 楼
邮编: 510663
电话: 4006-020-200
邮箱: sales@igenebio.com
网址: www.genecopoeia.com (英文) www.igenebio.com (中文)

GeneCopoeia Products are for Research Use Only

Copyright © 2023 GeneCopoeia, Inc.

Trademarks: GeneCopoeia™, OmicsLink™, All-in-One™, EndoFectin™, miTarget™, miExpress™ (GeneCopoeia Inc.); SYBR® (Molecular Probes); iQ™5 (Bio-Rad); Trizol™, ABI®, ROX® (Invitrogen); NanoDrop™ (Thermo Scientific).

QP066102623