



# HiFiScript gDNA Removal cDNA Synthesis Kit

目录号：CW2582M (100 rxns)

保存条件：-20°C

## 产品内容

Component	CW2582M 100 rxns
gDNA Eraser	50 $\mu$ l
10 $\times$ gDNA Eraser Buffer	120 $\mu$ l
HiFiScript, 200 U/ $\mu$ l	100 $\mu$ l
5 $\times$ ScriptRT Buffer	500 $\mu$ l
Primer Mix	120 $\mu$ l
RNase-Free Water	2 $\times$ 1 ml

## 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，10 μl反应体系可最大使用1 μg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（RNasin）。本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号为CW0596。
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。

### 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  $\mu\text{l}$ 。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 $\mu\text{l}$ 反应体系
10 $\times$ gDNA Eraser Buffer	1 $\mu\text{l}$
gDNA Eraser	0.5 $\mu\text{l}$
RNA Template <sup>1)</sup>	10 pg-1 $\mu\text{g}$
RNase-Free Water	up to 10 $\mu\text{l}$

**注意：1) 如果总RNA量大于1  $\mu\text{g}$ ，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 (RNasin)，该产品货号为CW0596。**

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 $^{\circ}\text{C}$  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，先按数+2的量配制成预混溶液，然后再分装 10  $\mu\text{l}$ 到每个反应管中，取配制的预混液10  $\mu\text{l}$ 加入至已完成去基因组的步骤1反应管中。

试剂	20 $\mu\text{l}$ 反应体系
步骤1反应液	10 $\mu\text{l}$
HiFiScript, 200 U/ $\mu\text{l}$	1 $\mu\text{l}$
Primer Mix <sup>1)</sup>	1 $\mu\text{l}$
5 $\times$ ScriptRT Buffer	4 $\mu\text{l}$
RNase-Free Water	4 $\mu\text{l}$

**注意：1) 可根据实验需要可使用Oligo-dT Primer或Gene Specific Primer，建议20  $\mu\text{l}$  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：
  - 1) 若下游进行荧光定量PCR检测，42℃孵育15分钟，85℃孵育5分钟。
  - 2) 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。**

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途