ABScript II cDNA First-Strand Synthesis Kit with gDNA Remover

产品目录号：RK29895

产品组分

	组分名称	组分编号	100 RXN
●	10X ABScript II Enzyme Mix	RM21451	200 µL
●	2X ABScript II Reaction Mix	RM21450	1 mL
●	Oligo $d(T)_{23}VN$ *（50 µM）**	RM20115	200 µL
●	Random Primer Mix（60 µM）**	RM20116	200 µL
○	dNTPs（10 mM each）	RM20120	100 µL
○	Nuclease-free H_2O	RM20214	1.25 mL
●	20X gDNA Remover Mix	RM21479	50 µL

**注：V=A, G or C；N=A, G, C or T。

**注：包含 1 mM dNTPs。

产品说明

ABScript II cDNA First-Strand Synthesis Kit with gDNA Remover 包含 ABScript II Enzyme Mix 和 ABScript II Reaction Mix 两种经过优化的 Mix。其中 ABScript II Enzyme Mix 包含了 ABScript II 逆转录酶和 RNase 抑制剂，而 ABScript II Reaction Mix 含有优化的反应 Buffer。ABScript II 逆转录酶是一种重组 M-MuLV 逆转录酶，拥有较低的 RNase H 活性同时兼具增强的热稳定性。与野生型 M-MuLV 相比，重组 M-MuLV 逆转录酶可以在更高的温度下合成第一链 cDNA。该酶在高达 48℃时仍具有活性，特异性 cDNA 产量更高。

本产品中 20X gDNA Remover Mix，可彻底去除 RNA 模板中残留的基因组 DNA，使定量结果更加准确。具有热敏感性，可在高温条件下快速不可逆地失活。

该试剂盒提供两种逆转录引物。Oligo-dT 引物[$d(T)_{23}VN$]迫使引物退火至 Poly(A)尾的起始处。优化的 Random Primer Mix 特异性较低，因此所有 RNA，包括 mRNA、rRNA、tRNA 均可作为逆转录模板。本试剂盒可合成长达 10 kb 的 cDNA。

保存温度

-20℃保存

第一链cDNA合成反应

1. RNA 和引物在 65-70℃变性 5 min 可以去除阻碍 cDNA 合成的二级结构，但在许多情况下可省略此步骤。
2. 为获得最大产量和长度的 cDNA，建议在 42℃ 孵育 1 hr。

第一链cDNA合成方案

实验开始前在冰上融解各组分并振荡混匀。

后续实验为 PCR

1. RNA 模板变性（可选步骤）

注：如果需要变性 RNA 模板，请使用以下方案。标准操作有助于打开复杂 RNA 模板的二级结构，提高反转录效率、增加 cDNA 产物。

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液

组分	加入量
RNA 模板	Up to 1 µg
Nuclease-free H_2O	Up to 4.5 µL

65℃ 孵育 5 min，短暂离心并迅速置于冰上，并在冰上静置 2 min。

E-mail:cn.market@abclonal.com
TEL:400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

2. 基因组 DNA 去除

组分	加入量
上一步混合液	4.5 μL
20X gDNA Remover Mix	0.5 μL

用移液器轻轻吹打混匀。42°C 2 min。

3. 配制第一链 cDNA 合成反应液

组分	加入量
上一步混合液	5 μL
Oligo $d(T)_{23}VN$ (50 μM) *	2 μL
2X ABScript II Reaction Mix	10 μL
10X ABScript II Enzyme Mix	2 μL
10 mM dNTPs	1 μL

***注：根据不同的实验需求，可按照推荐的引物浓度添加引物：Oligo $d(T)_{23}VN$（5 μM）、随机引物（6 μM）、特异性引物（0.1-1 μM）。**

混匀后，42°C 孵育 1 hr。如果使用 Random Primer Mix，建议 42°C 反应前先于 25°C 孵育 5 min。

80°C 加热 5 min 使酶失活，cDNA 储存在-20°C。对于下游 PCR 应用，cDNA 加入体积不应超过 PCR 反应总体积的 1/10。

后续实验为 qPCR

1. 基因组 DNA 去除

在 RNase-free 离心管中配制如下混合液

组分	加入量
RNA 模板	Up to 1 μg
20X gDNA Remover Mix	0.5 μL
Nuclease-free H_2O	Up to 5 μL

用移液器轻轻吹打混匀。42°C 2 min。

2. 配制第一链 cDNA 合成反应液

组分	加入量
上一步混合液	5 μL
Oligo $d(T)_{23}VN$ (50 μM) *	2 μL
2X ABScript II Reaction Mix	10 μL
10X ABScript II Enzyme Mix	2 μL
10 mM dNTPs	1 μL

***注：根据不同的实验需求，可按照推荐的引物浓度添加引物：Oligo $d(T)_{23}VN$（5 μM）、随机引物（6 μM）、特异性引物（0.1-1 μM）。**

混匀后，42°C 孵育 30 min。如果使用 Random Primer Mix，建议 42°C 反应前先于 25°C 孵育 5 min。

80°C 加热 5 min 使酶失活，cDNA 储存在-20°C。