

天
净
沙
系
列

CAT#:220625-50
低温运输，-20℃保存

BINGENE

抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶

Anti-gDNA Contamination MMLV Reverse Transcriptase

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	基因组 DNA（gDNA）污染是 RNA 样品中普遍存在的现象。由于污染的 gDNA 也会作为后续 RT-PCR 中的 PCR 步骤的模板,因此会严重干扰后续 RT-PCR 的效率和准确性，尤其是定量 RT-PCR。目前的去除 RNA 样本中 gDNA 污染的方法是先使用 RNase-free DNase 降解 RNA 样品中的 gDNA，然后再灭活 DNase，最后才加入引物等成分进行 RT 反应。。此方法分两步进行，否则 DNase 会降解引物，因此操作不是非常便捷。为了克服上述方法的缺点，本公司开发出了本产品，它具有下列特点: 1. 在逆转录的同时，同步去除 gDNA，不需要额外的加样操作。 2. 高效，可以使 RNA 样品中残留的 gDNA 污染（ng 级）降低 5 个数量级，绝大多数都能降低到 PCR 检测不到的水平。 3. 跟后续 PCR 和荧光定量 PCR 兼容，包括基于古细菌 DNA 聚合酶的 PCR（如基于 Pfu DNA 聚合酶的 PCR）。 4. 本产品规格足够 50 次 20uL 体系的抗 gDNA 污染逆转录反应。 5. 本产品只用于科研。																
规格及成分	本产品使用小塑料袋包装 <table><tr><td>成份</td><td>编号</td><td>规格</td><td>包装材料</td></tr><tr><td>5×RT Buffer</td><td>220625a</td><td>200uL</td><td>0.5mL 绿盖管</td></tr><tr><td>抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶，200U/uL</td><td>220625b</td><td>50uL</td><td>0.5mL 红盖管</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>220625sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>	成份	编号	规格	包装材料	5×RT Buffer	220625a	200uL	0.5mL 绿盖管	抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶，200U/uL	220625b	50uL	0.5mL 红盖管	使用手册	220625sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料														
5×RT Buffer	220625a	200uL	0.5mL 绿盖管														
抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶，200U/uL	220625b	50uL	0.5mL 红盖管														
使用手册	220625sc	1 份	无														
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。																
自备试剂	RNA 模板。																
使用方法	1. 在离心管中按下表设置抗 gDNA 污染逆转录反应（20uL 体系）: <table><tr><td>成分</td><td>样品管</td></tr><tr><td>自备的总 RNA</td><td>50 ng-1 ug（不超过 7uL）</td></tr><tr><td>或自备的 mRNA 模板</td><td>5-100ng（不超过 7uL）</td></tr><tr><td>基因专一引物 或 Oligo（dT）18 或 6nt 随机引物</td><td>2uL</td></tr><tr><td>dNTP，10mM</td><td>1 uL</td></tr><tr><td>5×RT Buffer</td><td>4 uL</td></tr><tr><td>抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶</td><td>1 uL</td></tr><tr><td>补自备 RNase-Free 水</td><td>到 20 uL</td></tr></table> 2. 轻轻吹打混匀，短暂离心，37℃保温 60 分钟同步进行 gDNA 清除反应和逆转录	成分	样品管	自备的总 RNA	50 ng-1 ug（不超过 7uL）	或自备的 mRNA 模板	5-100ng（不超过 7uL）	基因专一引物 或 Oligo（dT）18 或 6nt 随机引物	2uL	dNTP，10mM	1 uL	5×RT Buffer	4 uL	抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶	1 uL	补自备 RNase-Free 水	到 20 uL
成分	样品管																
自备的总 RNA	50 ng-1 ug（不超过 7uL）																
或自备的 mRNA 模板	5-100ng（不超过 7uL）																
基因专一引物 或 Oligo（dT）18 或 6nt 随机引物	2uL																
dNTP，10mM	1 uL																
5×RT Buffer	4 uL																
抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶	1 uL																
补自备 RNase-Free 水	到 20 uL																

	反应。如果要在高于 37℃ 的温度进行逆转录反应，则需要先在 37℃ 保温 60 分钟，再在选定的温度进行逆转录。 3. 95℃ 10 分钟加热灭活相关酶，短暂离心，所得反应液可以直接作为模板用于后续常规 PCR、染料法 qPCR 或探针法 qPCR 实验，或者长期放 -20℃ 待用。用于后续 PCR 时，一般使用量不超过终体积的 1/10，具体需要根据各厂家的 PCR 试剂盒确定。
关联产品	抗 gDNA 污染 RT-PCR 试剂盒