



Applied Biological Materials Inc.

Tel: 1-866-757-2414
Email: info@abmGood.com
Website: www.abmGood.com

5X All-In-One RT MasterMix (with AccuRT Genomic DNA Removal Kit) Cat. No.G492

保存至-20℃

产品货号	试剂名称	规格
G488-1	AccuRT Reaction Mix (4X)	200µl
G488-2	AccuRT Reaction Stopper (5X)	200µl
G490	5X All-In-One RT MasterMix	400 µl
RT-0	Nuclease-free H ₂ O	1 ml
规格		100次反应

产品介绍

abm的5X All-In-One RT MasterMix (with AccuRT Genomic DNA Removal Kit)试剂盒 使用高效快捷,用于第一链cDNA的合成,同时也包含了基因组DNA去除步骤。在RNA的提取过程中,基因组DNA (gDNA) 的污染对下游实验的进行具有重要影响,它会导致假阳性的出现以及对基因表达水平的错误判断。因此,高效地去除gDNA对于保证实验数据的准确性是最有效合理的方法。

基因组DNA去除试剂盒从实验开始到从样品中完全去除gDNA污染只要不到十分钟的时间,并且过程中无需加热,有机提取等可能会对RNA模板造成破坏等步骤。去除了gDNA的RNA模板可以通过5X All-In-One RT MasterMix反转录试剂盒直接反转录生成cDNA。5X All-In-One RT MasterMix试剂盒中包含合成第一链cDNA所需的,除RNA模板外的所有试剂,可随时取用。将两种试剂盒结合在一起,就形成了一种用于合成高品质cDNA的快捷方便的完整体系,所得产物在下游实验中具有广泛应用。

注意:当第一链cDNA合成后,cDNA产物可以直接作为下游的PCR/qPCR反应模板。

保存条件

所有组分应保存在-20℃的非除霜冰箱中。

实验操作

所有的gDNA去除和反转录反应都要求在无RNA酶的环境中进行。推荐使用PCR专用移液枪和滤芯枪头。始终将RNA置于冰上，使RNA模板降解的可能性最小。

1.将模板RNA置于冰上解冻，在室温下解冻其他试剂，并短暂摇晃混匀，从管壁处收集残留液体。解冻的试剂放于冰上。

2.在冰上，按照下表进行gDNA去除实验以及后期的反转录实验：

反应成分	加入量
RNA模板	加至2μg
AccuRT Reaction Mix (4X)	2μl
无酶水	加至终体积为8μl
在42℃下孵育2分钟或室温孵育5分钟， 然后依次向试管中加入下列试剂：	
AccuRT Reaction Stopper (5X)	2μl
将反应试剂充分混匀。纯化后的RNA可以直接用于第一链cDNA的合成， 将下列试剂加入试管中进行反转录反应：	
5X All-In-One RT MasterMix	4μl
无酶水	6μl
反应总体积	20μl
在25℃下孵育10分钟，若下游是qPCR反应，42℃下孵育15分钟， 若下游是PCR反应，42℃下孵育50分钟。然后85℃5分钟终止反应， 于冰上冷却。	

3.合成的第一链cDNA可以直接用于下游实验的应用，或长期储存在-20℃。

注意事项：为了清除多余的RNA,可加入1 μl (2 U)的E. coli RNA H 降解酶 (Cat. No. E018)，并于37℃下孵育20分钟。