

## Golden 1st cDNA Synthesis Kit (with dsNase)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

本试剂盒采用稳定高效的反转录预混体系 5×GoldenRT MasterMix 进行 RNA 的反转录反应，使用时只需加入模板、引物和 RNase Free H<sub>2</sub>O 即可，大大简化了操作过程、提高了效率、减少了操作过程中的人为误差。MasterMix 中添加了 HL dsDNase（热敏双链特异性核酸酶），该双链特异性核酸酶（又名 gDNA Remover）可在反转录的过程中，直接降解去除 RNA 中残留的基因组 DNA 污染（可去除 100ng 基因组 DNA），从而在定量 PCR 的检测中无需考虑基因组污染的干扰，设计的定量 PCR 引物也无需进行横跨外显子。

该试剂盒尤其适用于定量 PCR 检测。该预混体系包含点突变致 RNase H 活性缺失的 Golden MLV Reverse Transcriptase 反转录酶、dNTP、反应 Buffer、HL dsDNase 和 RNase Inhibitor。该试剂盒采用的反转录酶去除了 RNase H 活性，从而避免反转录过程中降解 RNA。同时经过突变文库筛选，使得其热稳定性更强，可耐受 55℃ 高温反应。相比于低温条件下反转录反应，采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构，从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度和产量，从而提高后续检测的灵敏度。合成的第一链 cDNA 可广泛用于 2ndStrand 的合成、杂交、PCR 扩增、Real-Time PCR 反应等。

**应用:** (1)该制品可有效反转录 mRNA、tRNA、LncRNA、ncRNA (2)该制品不可反转录 microRNA、病毒 DNA/RNA 样品

### 组分

名称	100T
5×Golden RT MasterMix (with dsDNase)	400 μl
20×Oligo dT(25)&Random Primer	100 μl
RNase Free H <sub>2</sub> O	1 ml × 2

**储存:** 请置于-20° C，可保存 3 年；避免反复冻融。

**注:** 如 5×Golden RT MasterMix (with dsDNase) 出现沉淀属正常现象，可用手捂化，混合均匀后使用不影响实验结果。

1. 按以下组分配制反转录反应液

<u>Total RNA or Poly(A) RNA</u>	<u>0.1-2 µg</u>
<u>5×Golden RT MasterMix(with dsDNase)</u>	<u>4 µl</u>
<u>*20×Oligo dT(25)&amp;Random Primer</u>	<u>1 µl</u>
<u>Rnase Free H<sub>2</sub>O</u>	<u>Up to 20 µl</u>

\*注：反转录引物可根据需要改用特异性引物。

#### 快速程序

37 °C	15~30min (cDNA 合成)
85 °C	5min (失活 MLV)

#### 标准程序

25 °C	10min (引物配对)
55 °C	30~60min (cDNA 合成)
85 °C	5min (失活 MLV)

2. 根据实际情况反转录可选择快速程序或标准程序

注：通常在定量 PCR 实验中使用快速程序进行反转录（反转录效率>80%），在进行高 GC 含量、含复杂二级结构、长片段的模板转录时采用标准程序（反转录效率>100%）。