天净沙系列

CAT#:220625

低温运输，-20℃保存

天净沙

抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶

Anti-gDNA Contamination MMLV Reverse Transcriptase

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

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 20 μL 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

成份	编号	规格	包装材料
5×RT Buffer	220625a	200 μL	0.5 mL 绿盖管
抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶，200 U/μL	220625b	50 μL	0.5 mL 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（20 μL 体系）：

成分	样品管
自备的总 RNA	50 ng-1 μg（不超过 7 μL）
或自备的 mRNA 模板	5-100 ng（不超过 7 μL）
基因专一引物 或 Oligo（dT）18 或 6 nt 随机引物	2 μL
dNTP，10 mM	1 μL
5×RT Buffer	4 μL
抗 gDNA 污染 MMLV 逆转录酶	1 μL
补自备 RNase-Free 水	到 20 μL

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

	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