

Version: AG 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit

(With gDNA Eraser)

目录号: AG0303

01/产品组分

序号	组分	AG0303-A 50 rxn(20μL/rxn)	AG0303-B 100 rxn(20μL/rxn)
1	4×gDNA Eraser Mix	200 μL	400 μL
2	5×SPARKscript RT Master Mix II	200 μL	400 μL
3	5×No RTase Control Mix	20 μL	40 μL
4	RNase Free H ₂ O	1 mL	1 mL

02/保存条件

本产品所有组分-20℃保存。

03/产品概述

本产品是一种高效、稳定、快速并可以去除基因组 DNA 污染的反转录体系。本试剂盒为一管式反转录预混 Mix，5×SPARKscript RT MasterMix II 中含有反转录第一链合成所需的所有试剂（SPARKscript H⁻ RTase、RNase Inhibitor、Random primers、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、Buffer）。通常 Real Time RT-PCR 等实验需要先用 DNase I 消化去除 RNA 中残留的基因组 DNA（gDNA），但是传统 DNase I 处理复杂并容易造成 RNA 的降解和损失。本试剂盒中使用了具有 DNA 分解活性的特殊 4×gDNA Eraser Mix，2 分钟消除 gDNA 残留，不需要 DNase I 消化和后续繁琐步骤。

04/适用范围

第一链 cDNA 合成；可用于高拷贝、低拷贝基因的检测。

05/产品特点

1. 不需要传统繁琐的 DNase I 消化，采用 gDNA Eraser Mix 极大简化了 DNA 残留的清除流程。
2. 全预混的反转录 Mix 和 gDNA Eraser Mix 大大减少了加样工作量和降低 RNA 污染机率。同时 2 种 Mix 在 -20℃ 不冻结可以直接使用，节约了化冻和混匀时间，使用方便。
3. 特殊优化的 Oligo (dT) 和 N6 随机引物配比，使 cDNA 合成可从 RNA 转录的各个区域起始并具有相同的逆转录效率，最大程度保证了 qPCR 结果的真实性和可重复性。
4. 反转录效率高，合成 cDNA 片段长度最高可达 12 kb。

06/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 避免 RNase 污染。
- ◇ 为保证反转录成功建议使用高质量的 RNA 样品。
- ◇ 4×gDNA Eraser Mix、5×SPARKscript RT Master Mix II 非常粘稠，溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失，用前请短暂离心，并且避免吸头外壁沾附损失。4×gDNA Eraser Mix、5×SPARKscript RT Master Mix II 可以每次按照 3.8 μL 使用，也不影响使用效果。
- ◇ 需要提高反转录效率或模板含量较低时，可以适当延长反转录时间。

07/第一链cDNA合成

以20 μL反应体系为例：

1. 将模板 RNA 在冰上解冻，RNase Free H₂O 在室温（15-25℃）解冻，解冻后迅速置于冰上，4×gDNA Eraser Mix 和 5×SPARKscript RT Master Mix II 置于冰上备用。使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀，简短离心以收集残留在管壁的液体到管底。
2. 去基因组 DNA 反应：
在 RNase Free 管里面加入以下成分，建议使用 PCR 管冰上配制。

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤12 μL [▲]
4×gDNA Eraser Mix	3.8-4 μL
RNase Free H ₂ O	up to 16 μL

▲Total RNA 不超过 2 μg，mRNA 不超过 200 ng（20 μL 体系）。

3. 轻轻混匀，42℃ 孵育 2 min（或者 37℃ 孵育 5 min）。控温步骤均建议 PCR 仪器上进行，反应结束后瞬间离心收集反应液至管底，

置于冰上放置。

4. 继续在同一管加入如下成分：

Components	Volume
5×SPARKscript RT Master Mix II	3.8-4 μL

5. 轻轻混匀（总体积 20 μL）。

▲如使用mRNA模板是来源于真核细胞（如人、小鼠的组织细胞）含有Poly（A）尾结构，42℃孵育15-20 min。

▲如使用mRNA模板是来源于原核细胞（细菌）或者病毒等不含Poly（A）尾结构，25℃孵育10 min，42℃孵育15-20 min。

6. 85℃加热 5 min 失活 SPARKscript H⁻ RTase 和 gDNA Eraser。

7. 置冰上，合成的 cDNA 可以用于下一步荧光定量 PCR。需较长时间保存时，请于-70℃保存，避免反复冻融。

08/RT-PCR

取 1/10-1/5 体积（2-4 μL）的反转录产物作为 PCR 模板或者根据需求调节使用量。若后续实验为实时荧光定量 PCR，逆转录产物的加量应不超过 PCR 体系终体积的 1/10，按照荧光定量 PCR 试剂说明书进行下一步荧光定量 PCR。

09/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞RNA快速提取试剂盒（含基因组DNA清除柱）

AC1705 高效固体表面RNase清除剂

AC1709 RNase Free and DNase Free纯水

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit（With gDNA Eraser）

AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix（With ROX）

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

