

Version: AG 4.2 (2022.12.19修订)

SPARKscript II RT Plus Kit

(With gDNA Eraser)

目录号: AG0304

01/产品组分

序号	组分	AG0304-A 50 rxn(20μL/rxn)	AG0304-B 100 rxn(20μL/rxn)	AG0304-C 500 rxn(20μL/rxn)
1	gDNA Eraser	50 μL	100 μL	
2	2×SPARKscript II RT Plus Master Mix	500 μL	1 mL	AG0304-B×5
3	RNase Free H ₂ O	1 mL	1 mL×2	

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 污染的高温反转录体系。试剂盒采用高温反转录酶，可以通读 GC 含量丰富、二级结构复杂的 RNA 模板，极大提高反转录效率。本试剂盒为一管式反转录预混 Mix，2×SPARKscript II RT Plus Master Mix 中含有反转录第一链合成所需的所有试剂 (SPARKscript II H⁻ RTase、RNase Inhibitor、Random Primer、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 gDNA Eraser，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，尤其 GC 含量高、复杂模板的高温反转录。

05/产品特点

1. 新一代高温反转录酶极大的提高热稳定性和复杂RNA模板的反转录效率。
2. 采用gDNA Eraser仅需2分钟清除DNA残留，不需要DNase I消化和后续繁琐步骤。全预混的反转录Mix，只需加入RNA和RNase Free H₂O，15分钟简单快速完成反转录。
3. 本产品特别优化了Oligo dT和N6随机引物的配比，使cDNA合成可从RNA转录的各个区域起始并具有相同的反转录效率，最大程度保证了qPCR结果的真实性和可重复性。

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。
- ◇ gDNA Eraser、2×SPARKscript II RT Plus Master Mix 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。
- ◇ 可以不经过去除基因组步骤，直接用 2×SPARKscript II RT Plus Master Mix 加 RNA 和 RNase Free H₂O 进行反转录。
- ◇ 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，gDNA Eraser 和 2×SPARKscript II RT Plus Master Mix 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，短暂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	≤9 μL▲
gDNA Eraser	1 μL
RNase Free H ₂ O	up to 10 μL

▲Total RNA建议范围：0.1 ng-1 μg; mRNA建议范围：10 pg-100 ng（20 μL体系）。

3. 移液器轻轻吹打混匀，42℃孵育 2 min。控温步骤均建议 PCR 仪器上进行，反应结束后置于冰上放置。

4. 继续直接在同一管加入如下成分：

Components	Volume
2×SPARKscript II RT Plus Master Mix	10 μL

5. 轻轻混匀，离心（总体积 20 μL）。

若cDNA用于qPCR：50℃孵育15 min；

若cDNA用于普通PCR：50℃孵育30 min。

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

7. 得到的 cDNA 产物可立即用于 qPCR 或普通 PCR 反应，不立即使用应在-20℃保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在-70℃保存。cDNA 应避免反复冻融。

08/qPCR或普通PCR

取适量反转录 cDNA 产物（一般不超过 qPCR 反应体积的 1/10）作为 qPCR 模板，按照荧光定量 PCR 试剂说明书进行下一步荧光定量 PCR。如果表达基因含量丰富，可以根据实际适当稀释 cDNA 模板使用。合成的第一链 cDNA 产物也可直接用于普通 PCR 反应中。

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

AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix（With ROX）

AH0201 2×Spark Probe qPCR Mix

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

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

Support: support@sparkjade.com

