

# 第一代逆转录预混液 RT-Mix (两步法)



产品货号	G03R01S	G03R01M	G03R01L
产品规格	10T	20T	50T
5×RT逆转录预混液	40 μL	80 μL	200 μL
5×No RT Control Mix	12 μL	12 μL	50 μL
dsDNase	10 μL	10 μL	50 μL
10×dsDNase Buffer	20 μL	20 μL	100 μL
Nuclease-Free Water	500 μL	500 μL	1mL

## 【产品介绍】

第一代 5×逆转录预混液 (RT-Mix) 是一款快速方便、减少污染的一链 cDNA 合成试剂盒，包含 RTase 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs, Oligo (dT)<sub>20</sub>VN 和随机引物等一链 cDNA 合成所需的所有组分，仅需加入 RNA 模板和水即可开始反应。

因提取的 RNA 中存在基因组 DNA 污染，如果在进行反转录实验前不进行去除处理，下游进行 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时进行扩增，尤其是引物设计在同一外显子上的情况。本 Mix 采用高效 dsDNase 以去除基因组 DNA 污染，从而保证后续实验结果的可靠性。同时区别于常规的 DNase I，它能够特异性的消化双链 DNA (dsDNA 以及 DNA 与 RNA 的杂合链)，并且具有热敏感性，可在高温条件下快速不可逆地失活。与传统使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染的方法相比，dsDNase 无需额外加入 EDTA 进行失活，不仅节省实验时间，而且降低了对逆转录反应的抑制。

本 Mix 作为新一代的两步法一链 cDNA 合成预混液，15 min 内最长可获得 12kb cDNA，采用去基因组 DNA 污染与反转录分开进行的操作方法，有效保证对 RNA 水平的精确定量。

使用本 Mix 获得的 cDNA，下游可用于 qPCR、普通 PCR 等实验。

## 【实验流程】

### 1. 基因组 DNA 污染去除

①在低温金属冰盒 (Cat: G07T01) 上进行如下反应:

试剂	使用量
模板 RNA <sup>a</sup>	50ng~1 μg
dsDNase	1 μL
10×dsDNase Buffer	1 μL
Nuclease-Free Water	To 10 μL

a. 推荐采用试剂盒提取的 RNA 作为模板。

② 轻柔吸打混匀，瞬离；

③ 37℃温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；

**注：若 RNA 中基因组 DNA 污染严重，可适当延长 37℃温育时间至 5 min。**

④ 55℃温育 5 min，使 dsDNase 失活，在低温金属冰盒 (Cat: G07T01) 上放置。

**(两步法)**

## 2. 第一链 cDNA 合成流程

① 在低温金属冰盒 (Cat: G07T01) 上进行如下反应:

试剂	使用量(实验组)	使用量 (NRC 对照组)
上述反应产物	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L
5 $\times$ RT 逆转录预混液	4 $\mu$ L	—
5 $\times$ No RT Control Mix	—	4 $\mu$ L
Nuclease-Free Water	To 20 $\mu$ L	To 20 $\mu$ L

② 轻柔吸打混匀, 瞬离;

③ 50 $^{\circ}$ C 温育 15 min;

**注: 若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构, 可预先 25 $^{\circ}$ C 温育 10 min.**

④ 反应结束后, 85 $^{\circ}$ C 温育 5 min, 以终止反应;

⑤ 将获得的 cDNA 溶液置于低温金属冰盒 (Cat: G07T01) 上, 用于后续实验。

**注: cDNA 溶液置于-20 $^{\circ}$ C 储存, 可贮存 6 个月; 置于-80 $^{\circ}$ C 可长期储存。**

**【注意事项】**

- 预混液中已经包含 Oligo(dT)<sub>20</sub>VN 和随机引物, 不仅适用于包含 Poly(A) 结构的真核生物 mRNA, 也适用于不含 Poly(A) 结构的原核生物 RNA、真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板, 但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。
- 此产品仅用于科学研究用途, 不可用于临床诊断。

**【相关产品】**

货号	产品名称	规格
G01E01	Trizol	100mL
G01E01	质粒小提试剂盒	50T/200T
G01E02	胶回收&PCR 产物纯化试剂盒	50T/200T
G02C01	2 $\times$ PCR Mix (+Dye)	1mL/5mL/50mL
G02C02	2 $\times$ HI-FI PCR Mix	1mL/5mL
G02C03	SYBR Green qPCR Mix (None Rox)	1mL/5mL
G02C04	SYBR Green qPCR Mix (Low Rox)	1mL/5mL
G02C05	SYBR Green qPCR Mix (High Rox)	1mL/5mL
G04D01	GPL 无缝克隆试剂盒	6T/20T/50T
G06Q01	GPL 安全核酸染料	500 $\mu$ L
G07T01	低温金属冰盒	1 set

Version: 20190106 (第一版)