

产 品 说 明 书

产品名称：RT mix with DNase (All-in-One)

产品货号：R2020S, R2020L

产品规格：20 μ L $\times$ 20T, 20 μ L $\times$ 100T

产品内容：

组分	R2020S (20 μ L $\times$ 20T)	R2020L (20 μ L $\times$ 100T)
5 $\times$ RT All-in-One Mix	80 μ L	2 $\times$ 200 μ L
DNase	20 μ L	100 μ L
RNase-free water	400 μ L	2 $\times$ 1 mL

* 5 $\times$ RT All-in-One Mix 包含以下组分：逆转录酶，RNA 酶抑制剂，dNTPs, buffer, Oligo(dT)₂₀VN 和随机引物。

储存条件

储存于-20 $^{\circ}$ C，有效期见外包装。

产品介绍

RT mix with DNase (All-in-One) 是将 RNA 合成 cDNA 的一个操作更为简便的系统，含有第一链 cDNA 合成所需的全部试剂，仅需加入 RNA 模板和水即可进行逆转录反应，操作非常方便。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA。合成的 cDNA 推荐用于 qPCR 反应。

该预混液采用特制的高效 DNase，该酶具有热敏感性，可在高温条件下快速不可逆地失活，因此仅需一次加样，即可同管进行去除基因组 DNA 污染与逆转录反应，与使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染相比，无需额外加入 EDTA 进行失活，不仅减少了对 RNA 模板的损伤、降低 RNase 污染风险，而且节省实验时间。

使用方法

1. 在冰浴的无核酸酶的离心管中配制下列逆转录体系：

组分	体积
5 $\times$ RT All-in-One Mix	4 μ L
DNase	1 μ L
模板 RNA	50 ng - 1 μ g

RNase-free water	加至 20 μ L
------------------	---------------

注：推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

2. 轻轻混匀，瞬时离心（使液体沉于底部）；

3. 在 PCR 仪上进行下列条件的反应：

37 $^{\circ}$ C 温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；

55 $^{\circ}$ C，温育 15 min；

85 $^{\circ}$ C，孵育 5 min，以终止反应

4. 将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于-20 $^{\circ}$ C，用于后续实验。

注意事项

1. RNA 模板的纯度和完整性是影响逆转录效果的重要因素，如模板中含有蛋白、EDTA、酚等杂质会使 RNA 降解。

2. 若后续实验为 qPCR，逆转录产物的加量应不超过 qPCR 体系终体积的 1/10，如 20 μ L 的 qPCR 反应体系，逆转录产物的加量应不超过 2 μ L。

3. 预混液中已经包含 Oligo(dT)₂₀VN 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。

