

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 μL×20T, 20 μL×100T

产品内容：

组分	R2020S (20 μL×20T)	R2020L (20 μL×100T)
5× RT All-in-One Mix	80 μL	2×200 μL
DNase	20 μL	100 μL
RNase-free water	400 μL	2×1 mL

* 5× 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°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× RT All-in-One Mix	4 μL
DNase	1 μL
模板 RNA	50 ng - 1 μg

RNase-free water	加至 20 μL
------------------	----------

注：推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

- 轻轻混匀，瞬时离心（使液体沉于底部）；
- 在 PCR 仪上进行下列条件的反应：
 - 37°C 温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；
 - 55°C，温育 15 min；
 - 85°C，孵育 5 min，以终止反应
- 将获得的产物迅速置于冰上或立即保存于-20°C，用于后续实验。

注意事项

- 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。
- 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 μL 的 qPCR 反应体系，逆转录产物的加量应不超过 2 μL。
- 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。