

All-in-One RT-QPCR Mix (with dsDNase)
一管化反转录预混液去基因组

Gecell
Version 09/22

目录号：7001

保存条件

-20 保存。

产品组分

名称	规格
All-in-One RT-QPCR Mix	400 μ l
dsDNase	50 μ l x2
Nuclease-Free Water	1 ml x2

产品介绍

All-in-One RT-QPCR Mix 是针对一链 cDNA 合成开发出的一个操作更为简便的系统, 包含所有一链 cDNA 合成反应所需组分 (M-MLV RTase III 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs, Oligo(dT)₂₀VN 和随机引物等), 反应中仅需加入 RNA 模板和水即可迅速进行反应。

预混液中的逆转录酶是基于 M-MLV RTase 开发的第三代逆转录酶, 该酶去除了 RNase H 活性, 反应温度高达 55°C, 大幅提升了逆转录效率和对复杂模板 (高 GC 比例或大量二级结构) 的耐受性, 特异性更好、产率更高、更容易获得全长 cDNA。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA。

该预混液采用高效的 dsDNase, 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。

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物 RNA 的逆转录反应, 逆转录产物兼容染料法和探针法 qPCR。可进行高性能的基因表达分析。

使用方法

第一链cDNA合成

① 于冰上加入以下反应组分：

试剂	使用量
模板 RNA	50 ng~1 µg
All-in-One RT-QPCR Mix	4 µl
dsDNase	1 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl

a. 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

- ② 轻柔吸打混匀，瞬离；
- ③ 37°C温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；
- ④ 55°C温育 15 min；
- ⑤ 反应结束后，85°C温育 5 min 以终止反应；
- ⑥ 迅速将获得的 cDNA 置于冰上，用于后续实验；或立即保存于 -20°C。

注：cDNA 溶液置于 -20°C储存，建议不超过 1 周；置于 -80°C可长期储存。

注意事项

cDNA 产物仅适用于 qPCR 反应，不适用于克隆等下游实验的长片段 PCR 扩增。

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。

RNA 中存在基因组 DNA 污染，如果反转录前不做去除处理，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时。