

# TRUEscript RT MasterMix (OneStep gDNA Removal)



北京艾德莱生物科技有限公司  
Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

地址：北京市海淀区上地紫成创业园 C126--130

电话：010-82796972/82795296 (Fax)

网址：[www.aidlab.cn](http://www.aidlab.cn)

## 包装量：

目录编号	包装单位
PC7001	20 $\mu$ l $\times$ 50次
PC7002	20 $\mu$ l $\times$ 100次

Components	PC7001	PC7002
5 $\times$ TRUE RT MasterMix	200 $\mu$ l	400 $\mu$ l
gDNA Remover	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l
RNase free H <sub>2</sub> O	1.5 ml	1.5 ml

**产品储存：** -20 $^{\circ}$ C 保存，有效期 12 个月

**制品说明：** 本制品采用分子进化技术多点突变的新一代反转录酶，大幅度提高了热稳定性和反转录效率。5 $\times$  TRUE RT MasterMix 为一管式反转录预混 Mix，含有反转录所需的所有试剂（TRUEscript H<sup>+</sup> RTase、RNase Inhibitor、Random primer、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、Buffer），只需加入模板 RNA 和水即可进行反应。使得 cDNA 的合成更加的方便快捷，特别适合 cDNA 合成以后的两步法 Real Time PCR 检测。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 Remover，只需一步操作，即可同时完成基因组清除与逆转录反应，极大简化了操作步骤，避免了复杂加样过程造成的样品污染与 RNA 降解的风险。

**适用范围：** 第一链cDNA合成。可用于高拷贝、低拷贝基因的检测。

## 产品特点：

1. 新一代反转录酶大幅度提高了热稳定性和反转录效率。
2. 全预混的反转录Mix，只需一步同时加入gDNA Remover、模板RNA 和水，实现cDNA 合成和去除基因组DNA同时进行。15分钟简单快速完成反转录。
3. RNA模板的体积最多可加到总体积的80%，非常适合于低浓度RNA模板的逆转录反应。
4. 预混合Mix在-20 $^{\circ}$ C不冻结，减少了化冻和混匀时间，使用更简单。
5. 本产品针对qPCR进行特别优化oligo dT和N6随机引物配比，使cDNA合成可从RNA转录本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。

## 第一链cDNA合成(以20 $\mu$ l反应体系为例，也可以采用10 $\mu$ l反应体系)

1. 将模板RNA、gDNA Remover、5 $\times$  TRUE RT MasterMix在冰上解冻；RNase free H<sub>2</sub>O在室温解冻，解冻后迅速置于冰上。使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀，可简短离心以收集残留在管壁的液体到管底。

2. 在PCR管里面加入以下成分：(建议使用PCR管配制，置PCR仪内反应)

Components	Volume
RNase free H <sub>2</sub> O	to 20 $\mu$ l (补足到总体积 20 $\mu$ l)
5 $\times$ TRUE RT MasterMix	4 $\mu$ l (见注意事项 3)
gDNA Remover	1 $\mu$ l (见注意事项 3)
模板 RNA	$\leq$ 15 $\mu$ l *

\* Total RNA 模板量常用量 1-2  $\mu$ g，不超过 2  $\mu$ g (20  $\mu$ l 体系)，可以根据 RNA 模板浓度进行增减用量。

3. 移液器轻轻吹打充分混匀按照如下程序进行反转录 (总体积20  $\mu$ l)

25°C <sup>a</sup>	5 min
42°C <sup>b</sup>	15 min <sup>c</sup>
85°C	5 sec

a 如使用 mRNA 模板是来源于真核细胞 (如人、动物、植物的组织细胞) 含有 Poly(A)尾结构，省略此步骤；如使用 mRNA 模板是来源于原核细胞 (细菌) 或者病毒等不含 Poly(A)尾结构，推荐做此 25°C 孵育 5 min 的步骤，可以确保 N6 随机引物的有效退火，提高 cDNA 产量。

b 如果模板具有复杂二级结构或高GC区域，可将反应温度提高至50°C-55°C，有助于提高产量。

c 若反转录后进行普通PCR (克隆基因片段) 扩增，42°C反转录时间延长到15-30 min。

4. 得到的cDNA产物可立即用于qPCR反应，或在-20°C保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后在-70°C保存。cDNA应避免反复冻融。

## RT-qPCR

cDNA产物可直接用作qPCR反应的模板。建议作为模板的cDNA产物的体积一般不超过qPCR反应体积的1/10 (最大可以加到1/5)，按照厂家荧光定量PCR试剂说明书 (艾德莱货号：PC59或者PC62) 进行下一步荧光定量PCR。

### 注意事项：

1. 避免RNase污染。
2. 为保证反转录成功建议使用艾德莱试剂盒提取的高质量RNA样品。
3. 5 $\times$ TRUE RT MasterMix和gDNA Remover含甘油很粘稠，溶液容易吸附在管壁和吸头外导致损失，用前请点甩离心后使用，并且避免吸头外壁沾附损失。5 $\times$ TRUE RT MasterMix和gDNA Remover内包含的酶均为过量，**即使每次5 $\times$ TRUE RT MasterMix按照3.6  $\mu$ l-3.8  $\mu$ l使用，gDNA Remover按照0.8  $\mu$ l-0.9  $\mu$ l也不影响使用效果。**