

# TRUEscript RT Kit (+gDNA Eraser)



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
PC5401	20 $\mu$ l $\times$ 50次
PC5402	20 $\mu$ l $\times$ 100次

Components	PC5401	PC5402
4 $\times$ gDNA Eraser Mix	200 $\mu$ l	400 $\mu$ l
5 $\times$ TRUE RT MasterMix	200 $\mu$ l	400 $\mu$ l
5 $\times$ No RTase Control Mix*	20 $\mu$ l	40 $\mu$ l
RNase free H <sub>2</sub> O	1.5 ml	1.5 ml

\* 5  $\times$  No RTase Control Mix 和 5  $\times$  TRUE RT MasterMix 成分完全一致，只是不含 TRUEscript H<sup>-</sup> RTase 反转录酶，可以用于反转录的阴性对照。

**产品储存：** -20°C 保存，有效期 12 个月

**制品说明：** 本产品是一种高效、稳定、快速并可以去除基因组 DNA 污染的反转录系统。试剂盒采用分子进化技术多点突变的新一代反转录酶，大幅度提高了稳定性和反转录效率。本试剂盒为一管式反转录预混 Mix，5  $\times$  TRUE RT MasterMix 中含有反转录第一链合所需的所有试剂 (TRUEscript H<sup>-</sup> RTase、RNase Inhibitor、Random primers、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、Buffer)。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 4  $\times$  gDNA Eraser Mix 2 分钟消除 gDNA 残留，不需要 DNase 消化和后续繁琐步骤。

**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稳定性和反转录效率。
2. 采用 gDNA Eraser 仅需 2 分钟清除 DNA 残留，不需要 DNase 消化和后续繁琐步骤。
3. 全预混的反转录 Mix，只需加入 RNA 和水，15 分钟简单快速完成反转录。
4. 同时 2 种 Mix 在 -20°C 不易冻结，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 反转录合成 (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 和 5  $\times$  TRUE RT MasterMix 在冰上解冻；4  $\times$  gDNA Eraser Mix 和 RNase free H<sub>2</sub>O 在室温解冻，解冻后置于冰上。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管内加入以下组分：(建议使用PCR管配制，置PCR仪内反应)

Components	Volume
Total RNA/mRNA	≤ 12 μl*
4×gDNA Eraser Mix	4 μl (见注意事项 3)
RNase free H <sub>2</sub> O	to 16 μl (补足到总体积 16 μl)

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

3. 移液器轻轻吹打混匀，42°C 孵育2 min。控温步骤均建议PCR仪器上进行。

4. 打开盖子，继续直接在同一管加入如下成份：

Components	Volume
5×TRUE RT MasterMix	4 μl (见注意事项 3)

5. 移液器轻轻吹打充分混匀按照如下程序进行反转录cDNA合成 (总体积20 μl)

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。

6. 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高技术RNA试剂盒提取的RNA样品。
3. 4×gDNA Eraser Mix、5×TRUE RT MasterMix 非常粘稠，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。4×gDNA Eraser Mix 和5×TRUE RT MasterMix内包含的酶均为过量，即使每次按照3.6 μl-3.8 μl使用，也不影响使用效果。
4. 可以不经基因组去除步骤，直接用5×TRUE RT MasterMix 进行反转录，这样所得到的结果会与使用TRUEscript RT MasterMix (货号：PC58)相当。