

High Performance qRT Master Mix(+gDNA Remove)

RT201

产品概述

本试剂盒为 qPCR 反转录专用。试剂盒中包含优化的 4×gDNA 去除及 5×反转录预混液。其中的 4×gDNA Remove Mix 能有效清除 RNA 样本中残留的 gDNA，从而保证后续 qRT-PCR 实验的定量结果更加准确可靠。而优化后的 5×HP qRT Master Mix 合成能力强、灵敏度高，广泛适用于动植物及微生物 RNA 的逆转录反应，产物兼容染料法和探针法 qPCR。

产品组成

组分	RT201A 100 rxns/20 μl
4×gDNA Remove Mix	400 μl
5×HP qRT Master Mix ^{*1}	400 μl
NRT ^{*2}	40 μl
RNase Free H ₂ O	1.25 ml

*1. 含 Buffer、dNTP、RT 酶、RNase inhibitor、Random primers/Oligo(dT)20 VN primer mix。

*2. 除不含 RT 酶外，其余成分与 5×HP qRT Master Mix 相同，用于配制 No RT 阴性对照。

保存条件

-30~-15°C 保存，干冰/-20°C 运输。

注意事项

- ✓ 本制品每次使用时务必使用桌面离心机点离后用移液枪轻柔地吹打混匀，避免剧烈震荡，以免酶失活。
- ✓ 反应体系需要在冰上配制，配制好的反应液需轻柔混匀离心后再放置于 PCR 仪中反应。
- ✓ 本产品获得的 cDNA 仅适用于 qPCR 反应，不适用于长片段基因扩增，如有需要，可选用本公司其他相关产品（RT101/RT102）。
- ✓ 高质量的 RNA 对于获得高质量的 cDNA 至关重要，实验前请用电泳验证 RNA 的完整性。
- ✓ 反转录过程中使用的相关耗材需确保无酶无菌。
- ✓ 逆转录产物可立即用于 qPCR 反应，或于 -30~-15°C 保存，并在半年内使用；长期存放建议分装后于 -85~-65°C 保存，应避免 cDNA 反复冻融。

操作流程

❖ 一步法操作流程

1. gDNA 去除体系配制

组分	1×
RNase Free H ₂ O	Up to 20 μl
4×gDNA Remove Mix	4 μl
5×HP qRT Master Mix ^{*1}	4 μl
RNA	1 pg-1 μg ^{*2}

*1. 将 5×HP qRT Master Mix 替换为 NRT 预混液可逆转录阴性对照反应，用于检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。（可选步骤）

*2. 基因表达量低时可增加 RNA 用量，但不建议超过 5μg 用量。

2. 反应程序

反应温度	时间
50°C ^{*3}	5 min
85°C	5 sec

*3: 对于富含复杂结构和高 GC 的模板，可适当延长至 15min，有助于提高反转录效率。

❖ 两步法操作流程

1. gDNA 去除体系配制

组分	1×
RNase Free H ₂ O	Up to 16 µl
4×gDNA Remove Mix	4 µl
RNA	1 pg-1 µg ^{*1}

*1. 基因表达量低时可增加 RNA 用量，但不建议超过 5µg 用量。

2. 用移液器吹打混匀。42℃ 孵育 2 min。

3. 配制逆转录反应体系

在第一步的反应液中直接加入 4 µl 的 5×HP qRT Master Mix，移液枪轻柔地吹打混匀。

配制体系如下：

组分	1×
5×HP qRT Master Mix ^{*2}	4 µl
第一步的反应液	16 µl

*2. 将 5×HP qRT Master Mix 替换为 NRT 预混液可逆转录阴性对照反应，用于检验 RNA 模板中是否有基因组 DNA 残留。（可选步骤）

4. 反应程序

反应温度	时间
50℃ ^{*3}	5 min
85℃	5 sec

*3：对于富含复杂结构和高 GC 的模板，可适当延长至 15min，有助于提高反转录效率。