

# ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover

货号：FSQ-301 (S)

保存条件：-20°C

## 产品介绍

该产品是使用高效率逆转录酶「ReverTra Ace®」开发的Realtime PCR用逆转录试剂盒。其中5x的预混型试剂包含了逆转录反应必需的全部组分，只要添加模板RNA与水，就能迅速地开始反应。另外，试剂盒中还包含能强力分解DNA的gDNA Remover，在逆转录反应前对模板RNA进行处理，就可以简便地制备无基因组DNA的cDNA。

## 产品组分

试剂名	保存条件 <sup>*1</sup>	容量
gDNA Remover	-20 °C	10 µl
4x DN Master Mix	-20 °C	440 µl
5x RT Master Mix II <sup>*2</sup>	-20 °C	400 µl
5x RT Master Mix II no-RT Control	-20 °C	40 µl
Nuclease-free Water	-20 °C	1 mL × 2

\*1:长期不用时，请在-30 °C条件下保存。开盖前请短暂离心使试剂落到管底，除水以外的各组分具有粘性，请小心使用移液器。

\*2:逆转录反应时，需要来自4x DN Master Mix的成分，因此5x RT Master Mix II不能单独使用，请务必进行去除gDNA的反应。

本产品是含有逆转录引物（Random Primer 及 Oligo dT Primer）的预混试剂，不能使用基因特异性引物(Gene Specific Primer)。

## 使用方法

### ① 4x DN Master Mix与gDNA Remover的混合（仅在初次使用时）：

在整管4x DN Master Mix（440 µl）中添加8.8 µl（1/50量）的gDNA Remover，颠倒混匀。添加gDNA Remover后的4x DN Master Mix在-20 °C条件下至少可保持3个月的稳定。短时间内无法使用完毕时，请少量混合后使用。

RNA的变性（可选）\*：

把RNA在65 °C条件下热变性5分钟后，立即置于冰上冷却。

\*此步骤对于容易形成高级结构的RNA可以提高逆转录的效率。进行以上步骤处理时，请不要添加4x DN Master Mix。

### ② 去除基因组DNA反应：

请在冰上配制如下反应液，可根据需要扩大反应体系。

4x DN Master Mix（已添加gDNA Remover）	2 µl
RNA 模板	0.5 pg ~ 0.5 µg
Nuclease-free Water	x µl
总计	8 µl

将反应液轻轻地搅拌均匀后，在37 °C条件下温育5分钟。

### ③ 逆转录反应：

配制如下反应液，可用5x RT Master Mix II no-RT Control代替5x RT Master Mix II，确认信号是否来自cDNA。

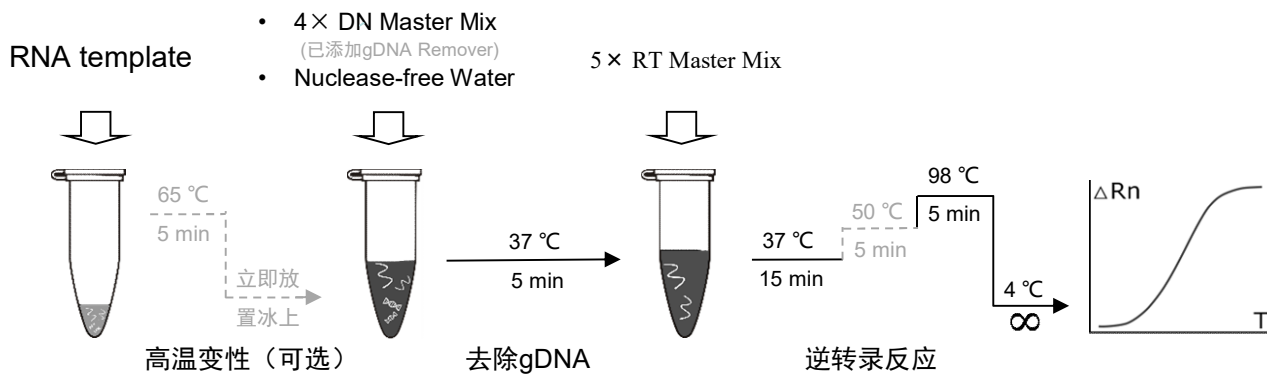
步骤②的反应液	8 µl
5x RT Master Mix II	2 µl
总计	10 µl

将反应液混合均匀后，按以下温度进行反应。

37 °C	15 min	} 逆转录反应
50 °C	5 min (可选)	
98 °C	5 min	— 酶失活反应
4 °C	hold	

\*ReverTra Ace经改良后提高了高温反应性，增加此步骤可提高逆转录效率。


④ 反应结束后，请在4 °C或-20 °C条件下保存。Realtime PCR时，作为模板直接或稀释后添加。



### Workflow图示

### 注意事项

1. 添加到PCR反应液中的逆转录反应液请不要超过总体积的20%。过量添加会导致PCR反应效率低下
2. 请尽量将RNA添加量控制在0.5 pg ~ 0.5 μg (10 μl体系) 范围内，过量的RNA可能会抑制逆转录反应
3. 本产品最多可去除约50ng的基因组DNA (10μl反应体系)，如模板中含有过量DNA请额外进行DNase I处理
4. 对于易形成高级结构的RNA模板，建议在反应前对模板进行热变性处理，并额外进行高温逆转录反应

 东洋纺（上海）生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路500号华润时代广场28楼AL单元  
邮编：200122

订货 · 技术相关咨询

TEL: 021-58794900 FAX: 021-58794901

E-mail: tech@bio-toyobo.cn

[URL] <http://www.bio-toyobo.cn>



扫码查看电子版说明书