

SmArt RT Master Premix (4×) (+gDNA remover)

SmArt 反转录预混液 (4×) (含 gDNA 清除剂)

产品描述

RT Mix for qPCR(+gDNA remover)包含针对反转录优化的最适 Buffer 以及反转录酶, 提升了 cDNA 合成的效率, 适用于两步法 qRT-PCR 检测。试剂盒中的 5 × gDNA remover 可去除 RNA 模板中残留的基因组 DNA, 保证后续定量结果更加可靠, 并可简化 qPCR 引物设计, 无需跨内含子设计引物; 4 × RT Mix 中含有反转录反应所需的所有组分, 加入模板 RNA 和水即可迅速进行反应, 同时终止 gDNA remover 作用, 保证 cDNA 的完整性。反转录产物兼容染料法与探针法 qPCR, 可进行高性能的基因表达分析。

产品组份

组分	100 T
5 × gDNA remover	300 μL
4 × RT Mix	500 μL

保存条件

-30°C ~ -15°C保存, 有效期 1 年, ≤0°C运输。

适用范围

本产品广泛适用于动物、植物以及微生物 RNA 的反转录反应, 反转录产物兼容染料法和探针法 qPCR。

需准备的材料

材料

- RNase-free 1.5 mL 离心管、0.2 mL PCR 管、移液器吸头
- 移液器、PCR 仪、冰或移动冰盒

RNA

- 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。

注意事项

1. 第一链 cDNA 产物可直接用作 qPCR 反应的模板。建议作为模板的 cDNA 产物的体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
2. 反转录反应体系建议加入不超过 1 μg 的 Total RNA。如果目的基因表达量非常低, 最多加入 5 μg Total RNA, 否则加入 RNA 量过高, 可能会超出后续定量 PCR 的线性范围。

3. 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。
4. RNA 相关操作等请使用全新 RNase-free 枪头、RNase-free 离心管等实验耗材。建议 RNA 实验使用的器具、试剂和无菌水等专用，避免 RNase 污染。
5. RT Mix 使用前需室温化冻，化冻后可能会有析出，混匀后可正常使用。建议分装避免反复冻融。

实验流程

1. 基因组 DNA 去除

RNase-free H ₂ O	10 μL
5 × gDNA remover	3 μL
模板 RNA(1 pg - 1 μg)	2 μL

在 RNase-free 离心管中用移液器轻轻吹打混匀。 42°C 2 min。

2. 配制反转录反应体系

在第 1 步的反应管中直接加入 4 × RT Mix

4 × RT Mix	5 μL
第 1 步的反应液	15 μL

用移液器轻轻吹打混匀。

3. 进行反转录反应

37°C*	15 min
85°C	5 sec

*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，有助于提高产量。

反转录产物可用于 qPCR 反应。可在 -20°C 保存；长期存放建议分装后在 -70°C 保存；cDNA 应避免反复冻融。

具体的操作步骤如下：

步骤一：取 3 μL 5x gDNAremover，加入 10 μL RNase free H₂O 和 2 μL RNA，用移液器轻轻吹打，充分混匀，瞬时离心，经 42 °C，2min 处理，以去除基因组 DNA；

步骤二：取 5 μL 4x RT Mix，加入步骤一得到的反应液 15 μL 中，用移液器轻轻吹打，充分混匀，瞬时离心，经 37 °C，15 min；85 °C，5sec 处理，即可得到反转录的 cDNA 产物，反转录产物用 qPCR 反应。

本产品仅作科研用途