

## 产品说明书

### 基本信息

|       |                                                                   |
|-------|-------------------------------------------------------------------|
| 产品编号: | PS1504                                                            |
| 产品名称: | TRUEscript RT MasterMix( for real time PCR) - 第一链反转录预混合 Mix/荧光定量用 |

### 产品简介

本产品以 RNA 为模板, 采用预混合技术, 用 5×TRUEReactionMix(已经预混合了 TRUEscript H<sup>-</sup> RTase、RNaseInhibitor、dNTPMixture、Buffer)高效合成第一链 cDNA, 操作简单。本制品采用分子进化技术多点突变的新一代反转录酶, 具有更强的延伸能力和稳定性, 可用于较长的 cDNA 合成以及高比例的全长 cDNA 文库的构建等。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。

本产品适用于第一链 cDNA 合成和高拷贝、低拷贝基因的克隆和检测。

### 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。合成 cDNA 长度高达 12kb 以上。           |
| 2: 全预混的反转录 Mix, 只需加入 RNA、引物和水, 简单快速完成反转录。                 |
| 3: gDNA Remover 采用先进的一步基因组清除技术, 最短时间最简单完成去除基因组 DNA 步骤。    |
| 4: RNA 模板的体积最多可加到总体积的 75%, 非常适合于低浓度 RNA 模板的逆转录反应。         |
| 5: 预混合 Mix 在 -20° C 不冻结, 减少了化冻和混匀时间, 使用更简单。               |
| 6: 用户可根据需要, 可灵活选择 Oligo(dT)、Random primer 或基因特异引物作为逆转录引物。 |

### 组分:

| 组分                      | 50T×20 μl 反应体系 | 100T×20 μl 反应体系 |
|-------------------------|----------------|-----------------|
| 5 × TRUE Reaction Mix   | 200 μl         | 400 μl          |
| gDNA Remover            | 50 μl          | 100 μl          |
| Oligo(dT) (0.5 μg / μl) | 50 μl          | 100 μl          |
| Random primer (N6)      | 50 μl          | 100 μl          |

### 操作步骤:

|                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 一: 引物选择                                                                                                                                                                            |
| 1: 如果模板为真核生物来源, 一般情况下首选 Oligo (dT), 与真核生物 mRNA 的 3' Poly A 尾配对, 可获得最高产量的全长 cDNA。                                                                                                   |
| 2: 如果对一些物种, 不能确定 mRNA 是否有 polyA 尾的情况下, 首选 Oligo (dT), 不成功再尝试基因特异性引物(GSP)和 Random primer 为引物。                                                                                       |
| 3: 基因特异性引物(GSP)的特异性最高。但有些情况下, 用于 PCR 反应的 GSP 无法有效引导第一链 cDNA 合成, 可改用 Oligo (dT)或 Random primer 重新进行逆转录。                                                                             |
| 4: Random primer 特异性最低, 所有 RNA, 包括 mRNA, rRNA, tRNA 均可以作为 Random primer 的模板。当目标区域具有复杂二级结构或 GC 含量较高, 或者模板为原核生物来源, 使用 Oligo (dT)或基因特异性引物(GSP)无法有效引导 cDNA 合成时, 可使用 Random primer 为引物。 |
| 5: 如果合成 cDNA 下游用于荧光定量 PCR, 可将 Oligo (dT)与 Random primer 混合使用(各加 1 μl/20                                                                                                            |

## 产品说明书

|                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| μl 反应体系), 可使 mRNA 的各个区域 cDNA 合成效率相同, 有助于提高定量结果的真实性和重复性。                                                                                                                                                                            |
| 二: 第一链 cDNA 合成(以 20 μl 反应体系为例)                                                                                                                                                                                                     |
| 1: 加入表 1 成分(使用前将每种溶液轻弹或者轻微涡旋振荡混匀, 可简短离心收集液体到管底。)                                                                                                                                                                                   |
| 2: 轻轻混匀<br>如用 Oligo(dT)或基因特异引物(GSP), 42° C 孵育 30-50 min(如产物用于 qPCR, 42° C 孵育 15 min)<br>如用 Random Primer, 25° C 孵育 10 min, 42° C 孵育 30-50 min(如产物用于 qPCR, 42° C 孵育 15 min)<br>注意:如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域, 可尝试将反应温度提高至 50° C, 有助于提高产量。 |
| 3: 85° C 加热 5 sec 失活 TRUEscript H <sup>-</sup> RTase。                                                                                                                                                                              |
| 4: 得到的 cDNA 产物可立即用于 PCR 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。                                                                                                                                                 |
| 三: RT-PCR                                                                                                                                                                                                                          |
| 建议取 1/10-1/5 体积(2-4 μl)的反转录产物作为 PCR 模板。丰度高的可以酌情适当稀释 cDNA 后使用。                                                                                                                                                                      |
| 四: 建议 PCR 条件                                                                                                                                                                                                                       |
| 请按照选择的 PCR 试剂说明书进行。                                                                                                                                                                                                                |

表 1

| Components                                                                                        | Volume                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Oligo(dT) (0.5 μg / μl) or<br>Random Primer(0.1 μg/μl) or GSP(Gene<br>Specific Primer, 2 pmol/μl) | 1 μl                   |
| 5 × TRUE Reaction Mix                                                                             | 4 μl(见注意事项 4)          |
| gDNA Remover *                                                                                    | 1 μl(见注意事项 4)          |
| RNase free H2O                                                                                    | to 20 μl(补足到总体积 20 μl) |
| *如果反转录时不需要去除基因组 DNA, 直接略去 gDNA Remover 成分不加即可。                                                    |                        |

### 注意事项

|                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1: 避免 RNase 污染。                                                                                                                                                                               |
| 2: 为保证反转录成功建议使用高质量的 RNA 样品。                                                                                                                                                                   |
| 3: 可选步骤(一般不需要):如果 RNA 模板 GC 含量丰富或者有复杂二级结构、或者扩增 cDNA 长度超过 3kb, 可以先只加 RNA 模板、引物和 RNase free H2O 混匀, 65° C 变性 5 分钟, 冰上冷却, 短暂离心后加入其它成分继续下面的反转录步骤。                                                 |
| 4: 5 × TRUE Reaction Mix 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 × TRUE Reaction Mix 内包含的酶均为过量, 即使每次按照 3.6 μl-3.8 μl 使用, gDNA Remover 按照 0.8 μl-0.9 μl 也不影响使用效果。 |
| 5: 本产品对标 Takara 产品编号: RR036A                                                                                                                                                                  |

**保存:** -20℃, 12 个月。

### 附配套 PCR 试剂:

| 产品编号   | 产品名称                      | 备注   |
|--------|---------------------------|------|
| PS1489 | F8 FastLong PCR MasterMix | 常规扩增 |



Beijing psaitong Biotechnology Co., Ltd.  
Tel/Fax:010-60605840  
邮箱: psaitong@jm-bio.com  
网址: www.jm-bio.com

## 产品说明书

|        |                           |       |
|--------|---------------------------|-------|
| PS1494 | A8 FastHiFi PCR MasterMix | 高保真扩增 |
|--------|---------------------------|-------|