



Reverse Transcript kit(Mix) With gDNA Remover

产品货号：RTK003

产品介绍：

本产品是以 mRNA 或者总 RNA 为模板，高效合成第一链 cDNA。产品中含有反转录反应所需的全部试剂（Reverse Transcriptase, RNase Inhibitor, Oligo(dT)18, Random N6, dNTPs）。反应时只需要加入 RNA 模板和水即可，操作简单，降低操作过程中的污染机率。产品中还含有去基因组成分 gDNA Remover，以 RNA 为模板进行 cDNA 第一链合成时，可以同步去除基因组 DNA 污染，反应结束后，75℃加热 5 分钟，就可以失活反转录酶、RNA 酶抑制剂。合成的第一链 cDNA 能直接用于 PCR 或荧光定量 PCR 的模板，第二链 cDNA 的合成或线性 RNA 扩增，也可用于需要用带有放射性或非放射性核苷酸标记第一链 cDNA 的实验。

产品特点：

1. 本制品采用耐高温逆转录酶，大幅提高热稳定性和 cDNA 合成效率；
2. 本制品中添加的 Reverse Transcriptase 无 RNase H 活性，可避免第一链 cDNA 合成过程中，RNA/DNA 杂交模板链中 RNA 降解，保证 cDNA 合成的质量；
3. 本制品中 Random N6 和 Oligo(dT)18 引物比例经过优化，可均匀合成样品中的 cDNA；
4. 本制品中含有去基因组成分，反转录时可同步去除基因组 DNA 污染。

产品组分：

Component	RTK003-01	RTK003-02
Reverse Transcript Super Mix	500μl	1ml
gDNA Remover	50μl	100μl
RNase Free Water	1ml	1ml×2

使用方法：

1. 第一链 cDNA 合成

试剂融化后，各组分混匀稍微离心后置于冰上。

1) 去基因组 DNA 反应：

Component	Volume
Total RNA/mRNA/特异性 RNA	0.1 ng -1μg/≥10 pg/≥0.01 pg
gDNA Remover	1μl
RNase Free Water	至 10μl

42℃孵育 5min，反应结束后冰上放置

2) 逆转录反应：

第一步反应液	10μl
Reverse Transcript SuperMix	10ul

轻轻混匀，离心。

若 cDNA 后续用于 qPCR，逆转录时间：50℃孵育 15min；



若 cDNA 后续用于普通 PCR，逆转录时间：50℃孵育 30min。

3) 75℃孵育 5min，终止反应。

反应产物可直接用于 PCR，如果不立即使用，-20℃保存，长时间保存建议-70℃放置。

注：1. 当 RNA 浓度较高或目标基因属高拷贝基因时，可将去基因组和逆转录合为一步操作，更省时省力。所有组分加到一起，50℃孵育 15-30min，最后 75℃孵育 5min 终止反应即可。

2. 第一链 cDNA 的 PCR 扩增

合成的第一链 cDNA 可直接用于 PCR。

推荐反应体系 (50μl)：

Component	Volume
2×Taq Master Mix*	25μl
Forward Primer	0.2-1.0μM (终浓度)
Reverse Primer	0.2-1.0μM (终浓度)
Template	1-2μl
ddH ₂ O	至 50μl

推荐 PCR 条件：

94℃	90sec ;	} 30 cycles
94℃	20sec ,	
57℃	20sec	
72℃	1kb/60 sec	
72℃	5min	

储存温度：-20℃保存。

注意事项：

1. 用 DEPC 处理实验用到的所有实验器材，或者购买已经证明无核酸酶的实验用具，实验过程戴手套并经常更换手套，避免 RNA 酶的污染。
2. 确保所用试剂中无 RNA 酶污染。
3. 试剂盒要严格密封保存。
4. 纯化过的 RNA 必须保证不含有盐，金属离子，乙醇和苯酚，以上成分会干扰第一链 cDNA 的合成反应。可采用乙醇沉淀 RNA 的方法去除掉痕量污染物。
5. 为保证反转录反应的有效进行，需使用高质量的 RNA 模板。
6. 实验结果显示，最快逆转录速度可达 2KB/MIN，需要提高反转录效率或模板含量较低时可以适当延长反转录时间。