

All-in-One RT Mix with DNase

极简一次加样，DNase+逆转录酶，2 min 去基因组，高温 55 °C 15 min 逆转录

产品货号：M10101

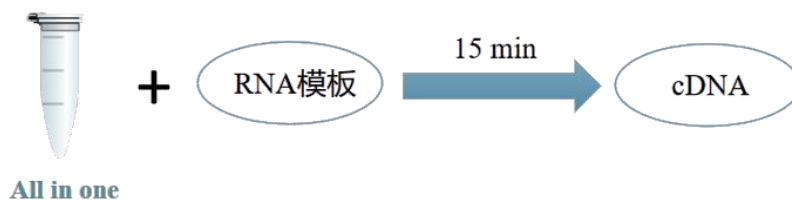
产品规格：20 μ L $\times$ 20 T, 20 μ L $\times$ 100 T

储运条件：-20 °C保存；冰袋运输

产品简介：

All-in-One RT Mix with DNase是一款专为RNA快速转化为cDNA设计的高效逆转录试剂盒，核心基于逆转录酶催化的合成原理。该预混液采用高效热敏感DNase，高温下迅速不可逆失活，因此仅需一次加样便能在同一管内完成基因组DNA污染去除和逆转录反应。产品采用全预混一管化体系，仅需添加RNA模板与水即可启动反应，操作流程简单高效。相较传统DNase I使用方法，无需额外添加EDTA失活，降低了对RNA模板的损害和RNase污染风险。该试剂盒生成的cDNA可直接用于qPCR实验，是逆转录、基因表达定量分析、病原体检测、转录组研究等的理想工具。

在RT-qPCR实验中，cDNA的质量和产量直接决定基因定量的准确性，基因组DNA污染是导致实验偏差的主要因素之一。本产品通过一管化操作，逆转录的同时去除基因组DNA，解决了传统逆转录流程繁琐、污染风险高、特异性不足等痛点为科研人员提供了快速、精准和稳定的实验解决方案。作为连接RNA样本与下游分子检测的关键桥梁，本试剂盒以高效、精准、便捷的特性，显著降低了逆转录实验的技术门槛，为科研人员提供稳定可靠的实验数据支撑，助力基因功能研究、疾病诊断标志物筛选等领域的高效推进。



注：效能等同TAKARA PrimeScript™ RT Master Mix(Perfect Real Time)；

注：本文中 PrimeScript™为 TAKARA 的商标及注册商标。

应用范围：逆转录、基因表达定量分析、病原体检测、转录组研究等。

产品特点：

- **极简操作：**一管化 Mix 使用方便，仅需添加 RNA 模板与水，降低操作污染风险；
- **极速去 gDNA：**37 °C，2 min 极速去除基因组 DNA；
- **合成速度快：**特制高效热敏感 DNase，反转效率高，15 min 快速合成 cDNA；
- **cDNA 产量高：**逆转录温度高达 55 °C，cDNA 产量更高，具有更完整的基因代表性。

产品组分：

组分	20 μ L $\times$ 20 T	20 μ L $\times$ 100 T
A. 5 $\times$ RT All-in-One Mix	80 μ L	2 $\times$ 200 μ L
B. DNase	20 μ L	100 μ L
C. RNase-Free Water	1.7 mL	2 $\times$ 1.7 mL

注：5 $\times$ RT All-in-One Mix包含逆转录酶，RNA酶抑制剂，dNTPs，Oligo(dT)₂₀VN和随机引物等。

注：100 T为试剂盒进行 20 μ L体系反应时反应的次数。



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probélives Technology CO., LTD.

注意事项:

- RNA模板的纯度和完整性是逆转录的关键。在逆转录中，若模板中混杂着易导致RNA降解的杂质如蛋白、EDTA、酚等，则会影响逆转录的效果。
- 后续qPCR实验，逆转录产物的加量应不超过qPCR体系终体积的1/10。
- 预混液中含有Oligo(dT)₂₀VN和随机引物，其适用范围广泛。既适用于含有Poly(A)结构的真核生物mRNA，也适用于不具备Poly(A)结构的原核生物RNA、真核生物rRNA以及tRNA等模板。不过，需要注意的是，该预混液并不适用于miRNA等小RNA模板。
- 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。
- 产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明:**一、实验前准备****1. 试剂准备:**

- 将试剂盒中的组分A (5×RT All-in-One Mix)、组分B (DNase)、组分C (RNase-Free Water)从储存条件（如-20℃）取出，放置于冰上或冰板上。

2. 仪器准备:

- 准备无酶枪头。
- PCR仪。

3. RNA 准备:

- 准备高质量的RNA。

二、操作步骤**1. 配置体系:**

反应组分	体积
5× RT All-in-One Mix	4 μL
DNase	1 μL
模板 RNA	50 ng~1 μg
RNase-Free Water	加至 20 μL

注：推荐使用高质量RNA作为模板。

2. 混匀离心: 轻柔混匀后瞬时离心，使液体集中在管底。**3. 根据下列条件设置 PCR 反应程序:**

- (1) 37℃, 2 min, 去除基因组 DNA 污染。
 - (2) 55℃, 15 min。
 - (3) 85℃, 5 min。
 - (4) 4℃, ∞。
4. 保存: 将获得的产物立即保存于-20℃, 如马上进行后续实验, 可暂放于冰上。

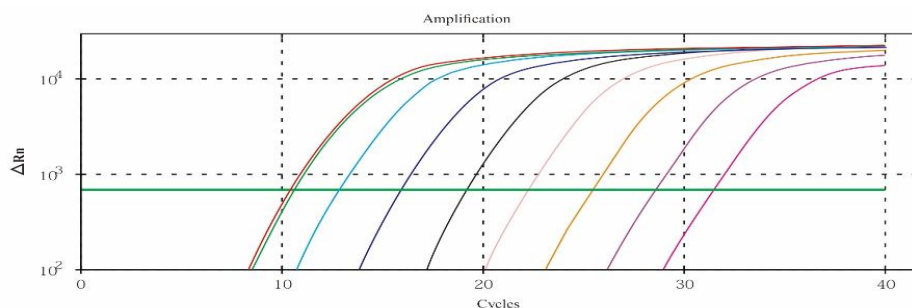
三、结果判读

图 1. 逆转录效率测试 qPCR 扩增曲线图



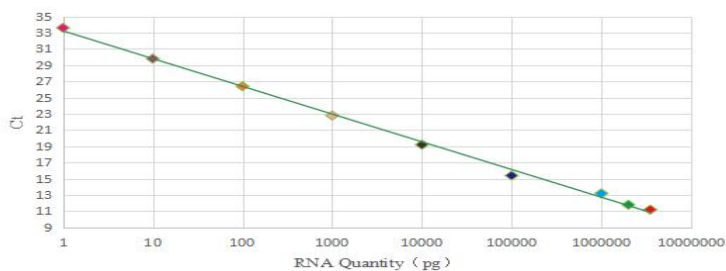


图 2.逆转录效率测试线性关系图

结果判读：以浓度梯度为1 pg-5 μg的总RNA模板量区间内，使用本产品进行逆转录实验，以cDNA为模板进行qPCR验证。结果证明，在模板量区间内，本产品都可以高效率地合成cDNA。

在浓度梯度为1 pg-5 μg的总RNA模板量区间内，相关性分析 $E=95.8\%$ ， $R^2=0.9998$ ，表明不同模板量结果间具有较好的线性关系。

常见疑问与解答：

- 问：逆转录产物无条带或条带很弱是什么原因？

答：可能是RNA模板质量不佳，存在降解或纯度不够；引物设计不合理，无法有效结合模板；逆转录酶活性降低或失活；反应体系中某些成分添加错误或量不足。可通过重新提取高质量RNA、优化引物设计、更换新的逆转录酶和检查反应体系来解决。

- 问：逆转录产物出现非特异性条带怎么办？

答：可能是引物特异性差，与非目的基因序列结合；模板中存在杂质或基因组DNA污染；PCR扩增条件过于宽松。解决方法包括重新设计特异性更高的引物；对RNA模板进行DNase I处理去除基因组DNA污染；优化PCR扩增条件，如提高退火温度、减少循环次数等。

