



Applied Biological Materials Inc.

Tel: 1-866-757-2414
Email: info@abmGood.com
Website: www.abmGood.com

5X All-In-One RT MasterMix

Cat.No.G490

请于-20° 储存

组分	产品货号		
	G485	G486	G490
5X All-In-One RT Mastermix	50 μ l	200 μ l	400 μ l
Nucleotides Free H ₂ O	1 ml	1 ml	2 x 1 ml
规格	25 反应	100 反应	200反应

产品介绍

abm的5X All-In-One RT MasterMix使用操作方便快捷，其中合成第一链cDNA所需的，除RNA模板外的所有试剂都已完全混合，可随时取用。这样的优化设计下，5倍浓缩的反应预混液包含了abm享有专利的OneScript™逆转录酶（OneScript™ RTase），RNaseOFF核糖核酸酶抑制剂，dNTPs和特别平衡配比了的Oligo(dT)s和随机引物。为了催化从单链RNA/DNA模板生成DNA互补链的过程，abm的科学家的精心设计，我们对莫洛尼式鼠白血病病毒（MMLV）反转录酶进行强化，改造出了OneScript™ RTase逆转录酶。

abm的研究人员开展了一系列战略性突变，包括在该酶的RNase H结构域中引入多个突变点，时期完全丧失RNase H活性。RNase H活性的缺失有助于在第一链cDNA合成时防止RNA模板的降解，从而保证所合成cDNA的长度和产量。此外，OneScript™反转录酶还包含有一个额外的保真亚单元，从而大大提高了反转录的优越保真性。其中至关重要的部件，RNaseOFF核糖核酸酶抑制剂可以有效地防止任何核糖核酸酶造成的RNA模板降解。同时本款预混液可以满足客户对不同引物的需求，预混液中的Oligo (dT) 会有选择性的至于RNA的Poly (A) 结合，而同时存在随机引物则不要求有poly (A) 存在，因此能用于合成任何RNA的5' -端部分。

注：完成第一链cDNA的合成后，所得到的cDNA产物可以直接作为模板用于标准的PCR/qPCR反应。

保存条件

可于-20° 的无霜冰箱贮藏一年。

引物信息

Oligo (dT) 是与mRNA的3'-poly (A) 末端结合的寡核苷酸，因此Oligo (dT) 在使用上有局限性，只有用于合成cDNA的mRNA或者全部RNA模板都含有3'-poly (A) 末端时才能起效。另一方面，由于随机引物会和RNA模板内的非特异性位点结合，它们通常被广泛用于各种种类的RNA模板上。



Applied Biological Materials Inc.

Tel: 1-866-757-2414
Email: info@abmGood.com
Website: www.abmGood.com

实验操作

逆转录实验应始终在无酶条件下进行操作。

推荐使用消毒的、专为PCR实验设计的自动移液枪和枪头。

1. 在冰盒中解冻RNA模板和5X All-In-One RT MasterMix。上下轻柔晃动将溶液混匀。

2. 按以下条件在PCR试管中设置反应体系，全程请在冰盒中操作：

反应成分	反应体系		最终体积
	10 μ l	20 μ l	
总RNA或者Poly (A) +mRNA	适量	适量	2 pg - 2 μ g/20 μ l rxn 0.01 pg - 2 ng/20 μ l rxn
5X All-In-One RT MasterMix	2 μ l	4 μ l	1X
Nucleotides Free H2O	补足至10 μ l	补足至20 μ l	-

3. 完全混合所有的反应成分并进行轻度离心，在25°条件下温育10分钟。

4. 若合成的cDNA模板将用于荧光定量qPCR检测，请按以下流程在水浴锅或PCR仪器内温育：

42° 15分钟

85° 5分钟

冰浴停止反应

合成完成的cDNA可用于即刻进行下游荧光定量qPCR检测，或于-20°长期储存。

若合成的若合成的cDNA模板将用于普通PCR反应，请按以下流程在水浴锅或PCR仪器内温育：

42° 50分钟

85° 5分钟

冰浴停止反应

合成完成的cDNA可用于即刻进行下游普通PCR反应，或于-20°长期储存。

注意事项

1. Poly (A) +mRNA和总RNA都可用于第一链cDNA的合成，但是poly (A) +mRNA更有可能得到高产量且更纯净的cDNA产物。

2. RNA模板内含有任何基因组DNA的污染都会影响逆转录的效率，去除基因组DNA污染试剂盒货号为G488。

3. 如果想要清除和cDNA结合的RNA，可以加入1 μ l (2U) E.Coli RNase H (货号E018) 后在37°条件下温育20分钟。