

## RTase III Primer Flexible

### All-in-One Mix

REF: EG20133S

#### 储运条件

-20°C

#### 产品组成

组分	规格
RTase III Primer Flexible All-in-One Mix	400 µl
Oligo(dT) <sub>20</sub> VN (50 µM)	100 µl
Random hexamers (50 µM)	100 µl
Nuclease-Free Water	2×1 ml

#### 产品简介

RTase III Primer Flexible All-in-One Mix 是一款高效、便捷、减少污染的高质量一链 cDNA 合成预混液，包含 M-MLV GIII Reverse Transcriptase 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs 等一链 cDNA 合成所需的多种组分，还需加入 RNA 模板、引物和水即可开始反应，操作非常方便。针对不同实验设计可灵活使用不同类型的逆转录引物，满足多样化的实验需求，可根据不同实验场景选择 Oligo(dT)<sub>20</sub>VN 或 Random hexamers 或 Gene Specific Primers。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA。

#### 使用方法

1. 于冰上配制如下反应体系：

##### ① 常规 RNA

试剂	使用量
模板 RNA <sup>a</sup>	50 ng~1 µg
RTase III Primer Flexible All-in-One Mix	4 µl
Oligo(dT) <sub>20</sub> VN (50 µM)	1 µl
或 Random hexamers (50 µM)	1 µl
或 Gene Specific Primers (50 µM) <sup>b</sup>	0.1 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl

a. 推荐使用试剂盒提取的已去除基因组 DNA 污染的高质量 RNA 作为模板。

##### ② miRNA

试剂	使用量
microRNA	10 pg~200 ng
RTase III Primer Flexible All-in-One Mix	4 µl
Stem-loop primer (5 µM) <sup>b</sup>	1 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl

b. 茎环引物推荐终浓度 0.25µM，可在 0.1~0.5µM 范围内进行调整。

2. 轻柔吸打混匀，瞬离；

3. 55°C 温育 15 min；

注：若目标 RNA 不含 Poly(A) 结构，可预先 25°C 温育 10 min。

4. 反应结束后，85°C 温育 5 min 以终止反应；

5. 将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验；或立即保存于 -20°C。

注：

1. 后续实验为克隆实验，若 RNA 来源于真核生物，只需使用 Oligo (dT)<sub>20</sub>VN 即可，加入 Random hexamers 会降低全长 cDNA 的产量；若 RNA 来源于原核生物，只需使用 Random hexamers 或 Gene Specific Primers。2. 后续实验为 qPCR，请同时加入 Oligo(dT)<sub>20</sub>VN 和 Random hexamers 以获得在 mRNA 不同位置逆转录效率均一的 cDNA。

3. 本品可用于 miRNA 逆转录，但需自行设计茎环引物。

#### 注意事项

为了防止 RNase 污染，请保持实验区域洁净；操作时需穿戴干净的手套、口罩；实验所用的离心管、枪头等耗材均需保证 RNase-free。