

NGScript III All-in-one RT Mix with (gDNA)

一管式去基因组反转录试剂盒

货号: NG049M 100次

【产品概述】

本产品是去基因组和反转录一管化预混液，只需一步操作，即可在 5min 内实现基因组 DNA 去除和 cDNA 合成同时完成，有效避免复杂加样造成的样品污染与 RNA 降解的风险。含有高效的第三代反转录酶，配合优化的 5×NGScriptIII All-in-one RT Buffer 使用，确保不同浓度的 RNA 模板有相同的反转录效率，尤其适用于短链 cDNA 的合成。Buffer 中含有优化配比的 RandomPrimer 和 Oligo18(dT)，无需单独添加引物，简化操作流程。反转录产物兼容染料法和探针法 qPCR，进行后续基因表达分析。

【产品特点】

1. 极省时间：反转录反应时间仅需 5min；
2. 极简操作：一步即可完成反转录和基因组去除，可以避免 RNA 样本降解的同时还能降低实验过程中的污染几率；
3. 极高效率：高效反转录酶及优化试剂配比，确保不同浓度的 RNA 模板有相同的反转录效率；
4. 适用范围：反转录产物推荐使用 qPCR 进行高/低拷贝的基因检测，不推荐用于常规 PCR 检测。

【产品组分】

组分	体积
NGScript III All-in-one RT Mix	100 μ l
5×NGScript III All-in-one RT Buffer	400 μ l
No RT Control Mix	10 μ l
Water nuclease-free	1.5ml

注：No RT Control Mix 中不含反转录所需的 RT 酶，用于检验 RNA 模板中是否有基因组残留。

【保存条件】-20℃保存，保质期 24 个月，避免反复冻融。

【注意事项】

1. 实验过程中请注意避免 RNase 污染。
2. 本产品采用热敏型 DNase，请务必将 NGScript III All-in-one RT Mix、5×NGScript III All-in-one RT Buffer、No RT Control Mix 置于冰上。
3. 产品各组分使用前请短暂离心收集至管底，并用移液器轻轻吹打充分混匀后，准确吸取，以防因浓度不均影响实验结果。
4. RNA 模板的完整性对 cDNA 合成效率起着决定性作用，因此请选择可靠的 RNA 提取/纯化方法。
5. 20 μ l 逆转录反应体系建议加入不超过 1 μ g 的 TotalRNA。
6. 反转录完的 cDNA 产物原液直接作为 qPCR 反应的模板，建议 cDNA 产物的体积不超过 qPCR 反应体积的 1/10。
7. RNA 可置于-70℃以下长期保存，cDNA 合成产物可置于-20℃保存。

【操作步骤】

1. 在 RNase-free 离心管中配制如下反应体系：

组分	体积
RNA 模板	$\leq 1 \mu\text{g total RNA}$ 或 $\leq 0.1 \mu\text{g poly(A) mRNA}$
NGScript III All-in-one RT Mix	1 μ l
5×NGScript III All-in-one RT Buffer	4 μ l
Water nuclease-free	补足至 20 μ l

为保证反转录效率，请使用高质量 RNA 模板进行反应。

用移液器轻轻吹打充分混匀后，短暂离心。

2. No RT Control 反应（选做）

注：该反应为不加反转录酶的阴性对照反应，用于检验 RNA 模板中是否有基因组残留。

组分	体积
RNA 模板	≤1 μg total RNA 或 ≤0.1 μg ppoly(A) mRNA
No RT Control Mix	1 μl
5×NGScript III All-in-one RT Buffer	4 μl
Water nuclease-free	补足至 20 μl

用移液器轻轻吹打充分混匀后，短暂离心。

3. 反应条件如下：

温度	时间
37°C	2min
50°C	5-15min
85°C	2min

复杂模板可采用 55-60°C 进行，提高反转录效率。反转录时间可根据实验应用场景做适当调整。

4. 反应结束后所得的 cDNA，请置于冰上进行后续实验或冷冻保存。

