

## MonScript™ RTIII All-in-One Mix (Primer Without)

REF: MR05401

### 储运条件

-20°C

### 产品组成

组分 / 规格	MR05401S
MonScript™ RTIII All-in-One Mix (Primer Without)	200 µl
MonScript™ 5× Super NRC Mix	50 µl
Nuclease-Free Water	1 ml

### 产品简介

MonScript™ RTIII All-in-One Mix (Primer Without) 是一款高效、便捷、减少污染的高质量第一链 cDNA 合成预混液，包含 MonScript™ RTase III (REF: MR00201) 及其反应 Buffer、RNA 酶抑制剂、dNTPs 等第一链 cDNA 合成所需的组分，**不含逆转录引物** (如 Oligo (dT) 或 Random hexamers)，用户可根据需要灵活添加逆转录引物，进行后续实验。预混液中的 MonScript™ RTIII 是基于 M-MLV RTase 开发的第三代逆转录酶，该酶去除了 RNase H 活性，反应温度高达 55°C，大幅提升了逆转录效率和对复杂模板 (高 GC 比例或二级结构) 的耐受性，特异性更好、产率更高。使用该逆转录预混液 15 分钟内最长可获得 12 kb 大小的 cDNA，合成产物可适用于下游 PCR 或荧光定量 qPCR 实验。

### 使用方法

#### 1. 引物选择:

- 真核生物 mRNA 模板通常含有 3' 端 Poly (A) 结构，一般情况反应体系中需添加 Oligo(dT) 与 Poly (A) 序列配对进行逆转录；
- Random hexamers 特异性较低，可适用于不同类型 RNA 比如原核生物 RNA 或其他具有复杂二级结构的 RNA，但投入量过高会降低全长 cDNA 的产量；
- 基因特异性引物 (GSP) 特异性较高，但部分情况下投入 GSP 可能无法有效引导 cDNA 的合成，这时可改用 Oligo(dT) 或 Random hexamers 重新进行逆转录；
- 若模板为 miRNA，可加入带茎环结构的引物进行扩增 (通用茎环序列可选: GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGAC TGGATACGAC)，用户在设计茎环结构引物时，只需在通用茎环序列后加上 miRNA 3' 末端的 6 个碱基的反向互补序列即可。

#### 2. 反应体系:

2.1 若模板为 mRNA 或 lncRNA，推荐的反应体系如下:

试剂	使用量 (实验组)	使用量 (NRC 对照组) <sup>b</sup>
模板 RNA <sup>a</sup>	50 ng~1 µg	50 ng~1 µg
MonScript™ RTIII All-in-One Mix (Primer Without)	4 µl	/
Oligo (dT) (10 µM)	1 µl	1 µl
Random hexamers (10 µM) <sup>c</sup>	0~2 µl	0~2 µl
MonScript™ 5× Super NRC Mix	/	4 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl	To 20 µl

a. 推荐使用高质量 RNA 作为模板。

b. NRC 对照组是为了排除由于基因组 DNA 污染而造成对实验结果误判。

c. 若后续实验为 PCR，用户可根据合成 cDNA 的长度在 0~2 µl (10 µM) 之间投入 Random hexamers；若后续实验为 qPCR，建议 Random hexamers 和 Oligo (dT) 各投入 1 µl (10 µM) 以提高 mRNA 各区间范围内 cDNA 的合成效率，有助于提高目标基因的检出。

2.2 若模板为 miRNA 可使用颈环法进行逆转录，推荐的反应体系如下:

试剂	使用量 (实验组)	使用量 (NRC 对照组) <sup>b</sup>
模板 RNA <sup>a</sup>	10 pg~1 µg	10 pg~1 µg
MonScript™ RTIII All-in-One Mix (Primer Without)	4 µl	/
Stem-loop primer (2 µM)	1 µl	1 µl
MonScript™ 5× Super NRC Mix	/	4 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl	To 20 µl

a. 推荐使用高质量 RNA 作为模板。

b. NRC 对照组是为了排除由于基因组 DNA 污染而造成对实验结果误判。

3. 轻柔吸打混匀，瞬离；

4. 55°C 温育 15 min；

⚠ 注：逆转录引物使用 Random hexamers，可预先 25°C 温育 10 min。

5. 反应结束后，85°C 温育 5 min 以终止反应；

6. 将获得的 cDNA 溶液置于冰上，用于后续实验；或保存于 -20°C，长期保存建议保存于 -80°C，避免反复冻融。

### 注意事项

1. MonScript™ 5× Super NRC Mix 中不包含 MonScript™ RTase III，可在反应中作为对照以判断体系中是否存在基因组 DNA 污染。
2. 若 RNA 模板需要除去基因组污染，推荐预先使用本公司生产的 dsDNase (MR80201) 去除基因组污染，再进行后续逆转录反应。

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司  
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com  
Web: www.monadbiotech.com



Simply Discover More