

MonScript™ RTIII Super Mix with dsDNase (Two-Step)

REF: MR05201

储运条件

-20°C

产品组成

组分 / 规格	MR05201S	MR05201M
MonScript™ 5× RTIII Super Mix	200 µl	2×200 µl
MonScript™ 5× Super NRC Mix	50 µl	50 µl
MonScript™ dsDNase, EX	50 µl	100 µl
MonScript™ 10× dsDNase Buffer	100 µl	200 µl
Nuclease-Free Water	1 ml	2×1 ml

产品简介

MonScript™ RTIII Super Mix with dsDNase (Two-Step) 是一款高效便捷的高质量一链 cDNA 合成预混液，使用该预混液 15 分钟内可获得长达 12 kb 大小的 cDNA，获得的 cDNA 下游可用于 qPCR 和普通 PCR。

通过试剂盒提取的 RNA 中往往存在着一定程度的基因组 DNA 污染，如果逆转录前不做去除处理，下游进行 qPCR 反应时基因组 DNA 与 cDNA 会同时进行扩增，尤其是引物设计在同一外显子上时。MonScript™ RTIII Super Mix with dsDNase (Two-Step) 预混液采用了高效的 dsDNase，该酶具有热敏感性，可在高温条件下快速不可逆地失活。与传统使用 DNase I 去除基因组 DNA 污染的方法相比，dsDNase 无需额外加入 EDTA 进行失活，不仅节省实验时间，而且降低了对逆转录反应的抑制。MonScript™ RTIII Super Mix with dsDNase (Two-Step) 预混液采用去基因组 DNA 污染与逆转录分开进行的操作方法，有效保证 cDNA 的高产量与不同丰度基因的逆转录一致性，以及 RNA 水平的准确定量。

使用方法

1. 基因组 DNA 污染去除

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量
模板 RNA ^a	50 ng~1 µg
MonScript™ dsDNase, EX	1 µl
MonScript™ 10× dsDNase Buffer	1 µl
Nuclease-Free Water	To 10 µl

a. 推荐使用试剂盒提取的高质量 RNA 作为模板。

② 轻柔吸打混匀，瞬离；

③ 37°C 温育 2 min，以去除基因组 DNA 污染；

⚠ 注：若 RNA 中基因组 DNA 污染严重，可适当延长 37°C 温育时间至 5 min。

④ 55°C 温育 5 min，使 dsDNase 失活，冰上放置。

2. 第一链 cDNA 合成

① 于冰上配制如下反应体系：

试剂	使用量 (实验组)	使用量 (NRC 对照组) ^a
“实验 1” 反应产物	10 µl	10 µl
MonScript™ 5× RTIII Super Mix	4 µl	—
MonScript™ 5× Super NRC Mix	—	4 µl
Nuclease-Free Water	To 20 µl	To 20 µl

a. NRC 对照组 (No reverse transcriptase control)：无逆转录酶的对照组，是为了排除由于基因组 DNA 污染而造成对实验结果误判。

② 轻柔吸打混匀，瞬离；

③ 50°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。

⚠ 注：反转录的 cDNA 产物于 -20°C 可以保存一周，如需保存更长时间请于 -80°C，并应尽快使用，避免反复冻融。

注意事项

预混液中已经包含 Oligo(dT)₂₀VN 和随机引物，不仅适用于包含 Poly(A) 结构的真核生物 mRNA，也适用于不含 Poly(A) 结构的原核生物 RNA、真核生物 rRNA 和 tRNA 等模板，但不适用于 miRNA 等小 RNA 模板。

☎ 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