



9620 Medical Center Drive,
Rockville, MD 20850, USA
Web: www.abpbio.com.cn
Tel:400-066-7718



ABP RT Master Mix(with RNA Purification kit)

Catalog Number: D006-2

一、产品信息

货号	包装规格	反应体系	存储
D006-2	100T	20 μ l	Long term: -20°C, Avoid freeze/thaw cycle

二、试剂盒组分

ABP RT MasterMix(with RNA Purification kit)(货号 D006-2)

编号	组分	规格	储存条件
D006-2A	ABP RT Master Mix	400 μ l	Store at -20°C
D006-B	Nuclease-free H ₂ O	1 ml	
D006-2C	RNA Purification Reaction Mix (4X)	200 μ l	
D006-2D	RNA Purification Reaction Buffer(5X)	200 μ l	

三、产品描述

本产品ABP RT Master Mix(with RNA Purification kit)是一款适用于以 RNA 为模板制备互补第一链cDNA的即用型高效逆转录试剂盒，操作简单、方便。该试剂盒包含去除基因组DNA污染的RNA纯化步骤，能有效的降低假阳性从而提高基因检测的准确性。此试剂盒ABP RT Master Mix由莫洛尼氏鼠白血病病毒逆转录酶(M-MLV RTase), RNaseOFF 核糖核酸酶抑制剂, dNTPs, Oligo(dT)s 及随机引物按照一定比例混匀配制而成。本产品中独特的 M-MLV RTase 组分经优化、特殊改造,能以单链 RNA 或 DNA 为模板(模板可长达 7kb), 高效、高保真地合成与模板互补的 cDNA 链。

本产品中针对 M-MLV RTase 组分中 RNase H 进行突变失活(RNase H-), 使 RTase 能够发挥良好的催化活性, 并在进行第一链 cDNA 合成时, 保护体系中 RNA 模板, 防止其在长时间孵育过程中被降解, 可以提高 cDNA 产率及合成长度。另外本试剂盒中 RTase 含有高保真组分, 使整个逆转录反应能够更精准地合成 cDNA 链。更重要的是, 试剂盒中所RNaseOFF 核糖核酸酶抑制剂能够保护 RNA 模板, 避免被反应中的 RNase 降解。

四、引物信息

Oligo(dT)s 与 mRNA 的 3'-poly (A) 尾结合启动逆转录反应, 故只有含有 3'-poly (A) 尾的

mRNA 或 Total RNA 才能作为 cDNA 合成模板；而随机引物与 RNA 模板上任意位点结合启动逆转录反应，故而任何类型的 RNA 均可作为 cDNA 合成模板。

五、存储条件

本试剂盒中所有组分均须于-20°C 存储，避免反复冻融。存储、操作得当，自签收之日起一年内，所有组分均可保持稳定、高效特性。

六、实验操作：

整个逆转录反应须在无酶环境中进行操作，建议使用洁净、无酶自动移液枪及吸头等进行操作，防止 RNA 模板降解。

1. 于冰上解冻 RNA 模板及ABP RT Master Mix，将两者混合，并轻轻吹打混匀。
2. 使用 PCR 管于冰上混合制备如下反应混合液：

组分	反应体系
Total RNA	《2 μg
RNA Purification Reaction Mix (4X)	2 μl
Nuclease-free H ₂ O	补至 8 μl
42° C 孵育混合物 2分钟或室温放置5分钟后进行以下操作	
RNA Purification Reaction Buffer (5X)	2 μl
纯化后的RNA将进行cDNA合成反应. 建议设置为20μl反应体系，各组分加样体系如下	
Total Reaction Volume	10 μl
ABP RT Master Mix	4 μl
Nuclease-free H ₂ O	6 μl

3. 将上述反应混匀物轻柔混匀，瞬时离心 3-5s，于 25°C 孵育混合物 10min。
4. 若下游进行 qPCR 反应，则于 42°C 孵育混合物 15 mins，若下游进行 PCR 反应，则于 42°C 孵育混合物 50 mins。
5. 终止反应，于 85°C 孵育混合物 5 min，冰上冷却。新制备的 cDNA 产物可即时用于下游相关实验，或于-20°C 长期储存。

备注：

1. 含 poly A 尾 mRNA 及 Total RNA 均可作为模板，使用本试剂盒进行逆转录反应。但 poly(A) + mRNA 作为模板的反转录体系所得 cDNA 产物纯度和产量更高。
2. 第一链cDNA合成完成后，cDNA产物可以直接作为模板在标准PCR/qPCR中应用。
3. 可以在逆转录反应完成后，向 PCR 反应管中加入 1ul *E. coli* RNase H，于 37°C 孵育 20min，用以清除反应产物中剩余的 RNA 模板，保证 cDNA 产物纯度。