

## PowerScript RT SuperMix

货号/规格: R1081/100 rxns, R1082/500 rxns, R1083/2500 rxns

### 产品说明

PowerScript RT SuperMix 是一种优化的 5X 逆转录混合物, 包含两步法 RT- qPCR 工作流程中第一链 cDNA 合成所需的所有成分。它含有耐热性逆转录酶, 支持在高温下的 cDNA 合成。同时含有鼠源 RNase 抑制剂保护模板 RNA 不被降解。混合物中包含的随机六聚体和 Oligo dT 引物, 可以充分进行各类 RNA 的逆转录。本品可对低至单拷贝的 RNA 进行逆转录, 产生的 cDNA 产物是 qPCR 检测的理想模板, 保证检测的灵敏和准确。

### 产品组分

组分	R1081 (100 rxns)	R1082 (500 rxns)	R1083 (2500 rxns)
PowerScript RT SuperMix	400 $\mu$ L	400 $\mu$ L $\times$ 5	10 mL

### 保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存, 有效期 2 年。

### 适用范围

第一链 cDNA 合成

### 注意事项

- 成功的 cDNA 合成来自高质量的 RNA。高质量的 RNA 至少应保证全长的完整性并且不含逆转录酶的抑制剂, 如 EDTA 或 SDS。
- 检测所需的 RNA 量取决于感兴趣转录物的丰度。一般情况下, 建议总 RNA 为 1 ng ~ 1  $\mu$ g 或 mRNA 0.1 ng ~ 100  $\mu$ g。
- 在操作过程中, 注意防止引入 RNase 导致 RNA 降解。RNA 最好保存于 -70 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融。
- 基因组 DNA 或过量产品的存在会干扰目标 RNA 的准确定量, 特别是对于低拷贝目标。

无 RT 对照反应可以通过将 PowerScript RT SuperMix 在 95 $^{\circ}$ C 下热失活 1 分钟再添加模板 RNA 来模拟无逆转录反应; 此外, 应设置 NTC (无模板对照) 反应, 以证明逆转录反应是有意义的。

- cDNA 产物应置于 -20 $^{\circ}$ C 或以下保存, 避免反复冻融。

### 操作步骤

#### 1. 配制反应体系

轻轻混匀本品, 按以下体系, 在无菌无酶离心管中配制反应混合液:

组分	用量	终浓度
PowerScript RT SuperMix	4 $\mu$ L	1X
RNA	1 pg-1 $\mu$ g*	-
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	补足至 20 $\mu$ L	-

\* 20  $\mu$ L 反应体系支持的最大 RNA 用量为: 1  $\mu$ g 总 RNA, 或 1  $\mu$ g mRNA, 或 100 ng 特异性 RNA。如果需要加大 RNA 用量, 则需要相应地增加反应体系, 已确保后续定量检测结果的线性。

#### 无模板对照反应 (可选)

按以下体系, 在无菌无酶离心管中配制反应混合液:

组分	用量	终浓度
PowerScript RT SuperMix	4 $\mu$ L	1X
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	16 $\mu$ L	-

#### 2. 进行逆转录反应

将上述混合液吹打混匀, 瞬时离心收集至管底。按以下程序, 在 PCR 仪中进行反应:

阶段	温度	时间	循环数
引物退火	25 $^{\circ}$ C	2 min	
cDNA 合成	55 $^{\circ}$ C*	10 min	1
热灭活	95 $^{\circ}$ C	1 min	

\* 可在 45 $^{\circ}$ C~65 $^{\circ}$ C 进行逆转录反应, 55 $^{\circ}$ C 是大多数反应的最佳温度。

#### 3. qPCR 反应及 cDNA 保存

cDNA 产物可稀释后立即进行染料法或探针法 qPCR 反应。若使用未稀释的 cDNA 原液，则体积不能超过反应体系的 20%，以避免抑制反应效率。长期保存 cDNA 产物应于-20℃ 或以下环境中，并避免反复冻融。

本品仅供科学研究使用。