

SimScript RT Master Mix 说明书

产品组成

SimScript RT Master Mix	20 次制备	100 次制备	200 次制备
Cat. No.	7326020	7326100	7326200
5×SimScript RT Master Mix	45 µl	220 µl	440 µl
RNase-free Water	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml×2

产品储存与有效期

- 20℃保存，有效期为两年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品是专为两步法 RT-PCR 第一步实验而研发设计的快速反转录试剂。5×SimScript RT Master Mix 中包含反转录酶、RNase Inhibitor、Random 6 mers、Oligo dT Primer、dNTP Mixture、RT Buffer 等反转录反应所需的全部试剂，反转录效率高、延伸能力强，可通读 GC 含量高和二级结构复杂的 RNA 模板，15 分钟即可高效合成 Real Time PCR 用模板 cDNA。本产品操作简便，仅需加入 RNA 模板和水即可进行反转录反应，特别适合于高通量检测。

用户需自备的试剂与物品

1. 普通 PCR 仪或水浴锅
2. 冰浴
3. RNase-free 的 0.2 ml 离心管或 1.5 ml 离心管
4. 移液器及 RNase-free 吸头
5. 一次性手套、口罩及防护用品和纸巾
6. 台式小量离心机（可配离心 0.2 ml 离心管或 1.5 ml 离心管的转子）

注意事项

1. 在操作过程中应避免 RNase 污染，防止 RNA 降解或实验中的交叉污染，建议戴一次性手套和口罩，并使用专门的仪器和耗材。
2. 请在冰浴上进行实验操作，以避免 RNA 降解。
3. 对于二级结构非常复杂的 RNA 模板，推荐将模板 RNA 在 65℃孵育 5 分钟后迅速转移到冰浴中，再进行反转录反应。
4. 5×SimScript RT Master Mix 中含有 Oligo-dT 和随机引物，如果需要使用基因特异性引物进行反转录反应，则无法使用本产品。

操作步骤

1. 将模板 RNA 在冰上解冻, RNase-free Water 室温解冻, 解冻后迅速置于冰上。
将 5×SimScript RT Master Mix 混合均匀, 短暂离心使溶液聚集到管底, 置于冰上。

2. 按下表组分配制反转录反应液（反应液配制请在冰上进行）。

试剂	使用量
5×SimScript RT Master Mix	2 μ l
Total RNA	x μ l*
RNase-free Water	(8-x) μ l
Total	10 μl

* 10 μ l 反应体系可最大使用 1 μ g 的 Total RNA, 如果需要反转录更多 RNA, 请按比例扩大反应体系。

3. 充分混匀, 短暂离心使溶液聚集到管底。
4. 50°C 孵育 15 分钟。
5. 95°C 孵育 5 秒钟, 之后 4°C 保温或置于冰上。

* 步骤 4、5 可在 PCR 仪上完成。

6. 得到的 cDNA 可立即用于后续实验, 或 -20°C 低温保存。

* 得到的 cDNA 加入到下一步的 PCR 反应体系中时, 其加入量不应超过 PCR 体系终体积的 1/10。例如 50 μ l 的 PCR 反应体系, cDNA 的加入量应不超过 5 μ l。

* 如果 cDNA 用作荧光定量 PCR 时, 未呈现标准的“S”形曲线, 可能是 cDNA 的浓度过高而影响背景荧光的采集, 建议将得到的 cDNA 稀释 2-5 倍后再进行荧光定量 PCR 实验。