



### 【产品概述】

GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase 是一种专有的 M-MLV 逆转录酶突变体，具备依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶活性，与前代产品相比具有更好的热稳定性和极低的 RNase H 活性，可在 50°C 条件下进行高效的逆转录反应。GeniuScript™ IV 保留了前代酶的优点，具有出色的稳健性和可靠性，并且在抑制剂耐受性、高 GC 含量靶标 RNA 合成效率、cDNA 合成长度等方面得到极大提升，可提供可靠、一致且快速的 cDNA 合成。

### 【产品组分】

组分		M5RT01-01 (10,000 U)
GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase (200 U/μl)		50 μL
5× GeniuScript™ IV Buffer		250 μL

### 【储存和运输】

干冰或冰上运输，-20°C 避光保存；避免反复冻融。

### 【实验操作】

【注意】需自备 dNTP mix 和 RNase inhibitor 等试剂；以及无核酶 PCR 管、移液器枪头等耗材。

#### 1. RNA 模板变性

在 RNase-free PCR 管中配制如下混合液：

组分	推荐用量
Template RNA (10 pg-5 μg total RNA / 10 pg-500 ng mRNA)	up to 12 μL
Oligo (dT) <sub>20</sub> (50 μM)	
or Random hexamers (100 μM)	1 μL
or Gene Specific Primers (2 μM)	
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	to 13 μL



用移液器吹打混匀；65°C 孵育 5 min 后，迅速放置冰上 2 min。注：RNA 模板变性有助于打开二级结构，可在很大程度上提高第一链 cDNA 产量。

## 2. 配制第一链 cDNA 合成反应液

按下表在上述 PCR 管中加入反应成分：

组分		推荐用量
上一步混合液		13 $\mu\text{L}$
5 $\times$ GeniuScript™ IV Buffer	●	4 $\mu\text{L}$
dNTP Mix (10 mM each)		1 $\mu\text{L}$
GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase (200 U/ $\mu\text{L}$ )	●	1 $\mu\text{L}$
RNase inhibitor (40 U/ $\mu\text{L}$ )		1 $\mu\text{L}$

用移液器吹打混匀后瞬时离心。

## 3. 按下列条件进行第一链 cDNA 合成反应

温度	时间
25°C <sup>a</sup>	5 min
50°C <sup>b</sup>	15 min
85°C	5 min

a. 仅当使用 Random hexamers 时需要此步骤；使用 Oligo (dT)<sub>20</sub> 或 Gene Specific Primers 时省略此步骤。

b. 如果模板具有复杂二级结构或高 GC 区域，可将反应温度提高至 55°C，有助于提高产量。

4. 产物可立即用于 qPCR 反应，或在 -20°C 保存，并在半年内使用，应避免反复冻融；长期存放建议分装后在 -70°C 保存。

