

【产品概述】

利用实时荧光定量 PCR 进行基因表达分析时，RNA 模板中的残留 gDNA 通常也会直接参与 qPCR 扩增，进而严重影响基因表达分析结果的准确性。传统预先对 RNA 模板进行 DNase I 处理的方案，操作繁琐且往往会造成一定程度的 RNA 降解与损失。而通过设计跨内含子的引物或探针的方法一方面会增加引物、探针设计的难度，另一方面也无法解决非特异扩增、假基因存在、物种全基因组序列未知等难题。

博岳 GeniuScript™ RT SuperMix with gDNA Eraser 2.0 是一款升级版的可在同一反应体系中先后完成 gDNA 去除和 RNA 高效逆转录的试剂盒。本产品包含了第四代 GeniuScript™ IV 逆转录酶、RNase Inhibitor、gDNA Eraser、Oligo (dT)₂₃VN、Random Hexamers、以及精心优化的反应缓冲液。使用时只需在反应体系中加入模板 RNA 就可以进行彻底的 gDNA 去除和高效的逆转录反应，反应过程无需二次开盖操作，极大地简化了逆转录实验步骤，可以显著提升实验成功率和定量数据准确性。逆转录产物非常适用于基于染料法或探针法的基因表达分析等 qPCR 实验。

【产品组分】

组 分		M5RT04 - 01 (100 rxns)
Enzymes Mix ^a		200 μL
5× RT SuperMix Buffer ^b		400 μL
No RT Control Mix		40 μL
RNase-free ddH ₂ O		1.5 mL

a. 含 GeniuScript™ IV Reverse Transcriptase、gDNA Eraser、RNase inhibitor 等成分

b. 含 Oligo(dT)₂₃VN、Random Hexamers、dNTPs 及其他反应必须的成分

注意：Enzymes Mix 和 No RT Control Mix 中含热敏成分，配制反应体系时各成分需置于冰上操作

【储存和运输】

干冰或冰上运输，-25~-15℃避光保存；若多次使用，建议分装保存，避免反复冻融。



【注意事项】

- ☑ Enzymes Mix 和 No RT Control Mix 中含热敏成分，配制反应体系时各成分需置于冰上操作。
- ☑ Enzymes Mix 和 No RT Control Mix 粘度较高，使用前请短暂离心，吹打混匀后准确吸取。
- ☑ 提前将 5× RT SuperMix Buffer 完全融化，充分混匀后置于冰上备用。
- ☑ 请于超净工作台等洁净环境进行操作，并使用 RNase-free 的移液枪头、反应管等耗材；推荐使用带滤芯的枪头，尽量避免交叉污染和气溶胶污染。
- ☑ 尽量使用纯度高、完整性好的 RNA 以进一步提升实验成功率及确保数据准确性。

【实验操作】

1. 反应体系配制

在 RNase-free 的 PCR 管中按下表配制反应体系（总体积 20 μ L）：

组 分		推荐用量
5× RT SuperMix Buffer	●	4 μ L
Enzymes Mix	●	2 μ L
Template RNA (Total RNA)		1 pg - 1 μ g
RNase-free ddH ₂ O	○	to 20 μ L

移液器吹打混匀后，短暂离心，将反应液收集于管底。

【可选】No RT Control 反应体系配制

No RT Control 指不加逆转录酶的阴性对照，用于检验 RNA 模板中是否存在 gDNA 残留。

在 RNase-free 的 PCR 管中按下表配制反应体系（总体积 20 μ L）：

组 分		推荐用量
5× RT SuperMix Buffer	●	4 μ L
No RT Control Mix	●	2 μ L
Template RNA (Total RNA)		1 pg - 1 μ g
RNase-free ddH ₂ O	○	to 20 μ L

移液器吹打混匀后，短暂离心，将反应液收集于管底。



2. 反应程序

将反应管放入 PCR 仪，按下列程序进行反应

步 骤	温 度	时 间
去基因组	37°C	2 min ^a
逆转录	50°C ^b	15 min
酶失活	85°C	2 min

- a. 当模板 RNA 中存在较多 gDNA 残留时，可以适当延长 37°C 孵育时间。
- b. 当模板 RNA 具有复杂二级结构或高 GC 区域时，可将反应温度提高至 55°C 有助于增加 cDNA 产量。
- 逆转录 cDNA 产物可以直接用于后续的 PCR 扩增、或基于荧光法及探针法的 qPCR 反应等，也可以在 -20°C 冻存储备，应避免反复冻融。若长期保存，建议分装后 -80°C 冻存。

后续使用 cDNA 原液进行扩增时，cDNA 原液体积应不超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

【附 I. qPCR 检测方案】

以下以使用博岳 2× Universal HS SYBR qPCR Master Mix (Cat: M4QS07，染料法 qPCR 试剂，含 ROX 参比荧光，各机型通用) 进行 qPCR 扩增为例进行描述。

推荐的 qPCR 反应体系 (20 μL) 如下：

组 分	推荐用量	推荐终浓度
2× Universal HS SYBR qPCR Master Mix	10 μL	1×
Forward Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1 - 1 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μL	0.1 - 1 μM
cDNA 原液或稀释后的 cDNA*	2 μL	-
ddH ₂ O	7.2 μL	-

* 可根据逆转录 RNA 投入量、cDNA 浓度等调整 cDNA 原液或稀释后的 cDNA 的用量。使用 cDNA 原液进行扩增时，cDNA 原液体积不超过 qPCR 反应总体积的 1/10。

推荐使用两步法进行 qPCR 扩增，设定“参比荧光”为“ROX”，扩增程序如下：

步骤	温度	时间	荧光信号	循环数
Pre-denaturation	95℃	3 min	-	1
Denaturation	95℃	10 s	-	40
Annealing/Extension	55-65℃	5-20 s	采集 SYBR 荧光	
Melting curve	按荧光定量 PCR 仪推荐的熔解曲线分析程序即可			

【附 II. 相关产品】

货 号	产 品	应 用
M1TR01	BRlzoI™ Universal Total RNA Isolation Reagent	RNA 提取
M1TR02	BRlzoI™ Universal Total RNA Isolation Kit (Beads)	
M4QP01	2× Taq Universal Probe Master Mix	qPCR 扩增
M4QS07	2× Universal HotStart SYBR qPCR Master Mix	



SERVE SCIENCE
SEE THE FUTURE

Hangzhou BioEast Biotech. Co., Ltd.

📍 Room 701, Building 3#, Hexiang Technology Center, Hangzhou Biopharma Town, Hangzhou, China

☎ Tel: +86-571-8696 3020

🌐 Web: www.bioeast.com

