

【产品简介】

TOROBlue® qRT Premix with gDNA Eraser 2.0 是含去除基因组 DNA 功能的 qPCR 用逆转录试剂盒。

【产品组成】

TOROBlue® qRT Premix with gDNA Eraser 2.0 (RTQ-202) 采用 20μL 反应体系可使用 200 次。如下:

货号	品名	规格	数量
RTQ-202	RNA Dilution Buffer	1mL/管	2 管
	5×gDNA Eraser Mix	300μL/管	2 管
	5×qRT Premix II	400μL/管	2 管
	RT Enzyme Mix	100μL/管	2 管

备注:

1. 试剂盒在-20℃储存, 使用前请完全融化, 并离心后使用。

【使用方法】

1. 去除基因组反应

请在冰上配制如下反应液:

组分	添加量
5×gDNA Eraser Mix	3μL
总 RNA 模板	0.5pg~3.0μg
RNA Dilution Buffer 或 DEPC 水	补足到 15μL

将反应液涡旋混匀后离心, 按如下条件反应:

步骤	条件
基因组去除	37°C, 5min
RNA 变性及酶失活	65°C, 2min

备注:

- 65°C, 2 分钟非常重要, 在灭活 dsDNase 同时打开 RNA 高级结构, 有助于提高逆转录效率。
- 立即将反应液置于冰上。

2. 逆转录反应

请在冰上配制如下反应液:

组分	添加量
以上去基因反应液	15μL
5×qRT Premix II	4μL
RT Enzyme Mix	1μL

用移液器将反应液轻轻均匀后离心, 按如下条件反应:

步骤	条件
逆转录	37°C, 15min
酶失活	98°C, 2min

备注:

- 可使用 37-55°C 之间进行逆转录, 时间根据模板量及片段长度在 5-30min 之间调整。
- 得到的 cDNA 产物可以直接或稀释后进行 qPCR。

【No-RT 对照】

按 MIQE 指南要求,每个 RNA 模板需要使用无逆转录酶对照对基因组污染残留进行评估。

1. 将第一步去基因组反应步骤调整为 20 μ L 反应（改为加入 4 μ L 的 5 $\times$ gDNA Eraser Mix 和适量 RNA 模板，并用水补足到 20 μ L），去基因组完成后取出其中 5 μ L 验证基因组残留状况，按如下配制 40 μ L 的 No-RT 对照液：

组分	添加量
去基因组反应液	5 μ L
5 $\times$ qRT Premix II	2 μ L
RNase free water	33 μ L

2. 如上 No-RT 对照液可以直接或稀释后进行 qPCR。
3. 若有扩增，请通过降低 RNA 模板量或加大去基因组酶体积重新进行去基因反应。
4. 若无扩增，剩余的 15 μ L 去基因组反应液直接进行逆转录反应。

【储存条件】

所有组分请均保存于-20℃条件下。

【配套产品】

高速高灵敏染料法定量 PCR Mix

货号	规格	规格	厂家
QST-300P	TOROGreen® 5G qPCR Premix	20 μ L 反应 500 次	TOROIVD

高稳定高 GC 染料法定量 PCR Mix

货号	规格	规格	厂家
QST-100	TOROGreen® qPCR Master Mix	20 μ L 反应 1000 次	TOROIVD

高通用高分辨率熔解曲线染料法定量 PCR Mix

货号	名称	规格	厂家
QET-100	TOROGreen® HRM qPCR Master Mix	20 μ L 反应 1000 次	TOROIVD



天筛（上海）科技有限公司

网址: www.toroivd.com

电话: 400-688-2055

邮箱: market@toroivd.com

更多科研产品，请关注天筛优品微信小程序

