

**描述:** 本试剂盒采用稳定高效的反转录预混体系 5xGolden RT MasterMix 进行 RNA 的反转录反应, 使用时只需加入模板、引物和 RNase Free H<sub>2</sub>O 即可, 大大简化了操作过程、提高了效率、减少了操作过程中的人为误差。具有快速简便、重复性高、特异性好、灵敏度高和稳定性好的特点。专用于病毒 DNA/RNA 样品的反转录反应。

该预混体系包含点突变致 RNase H 活性缺失的 Golden MLV Reverse Transcriptase 反转录酶、dNTP、反应 Buffer 和 RNase Inhibitor。该试剂盒采用的反转录酶去除了 RNase H 活性, 从而避免反转录过程中降解 RNA。同时经过突变文库筛选, 使得其热稳定性更强, 可耐受 55°C 高温反应。相比于低温条件下反转录反应, 采用高温反转录可显著打开 RNA 二级结构, 从而提高复杂 RNA 模板的扩增性能、提高反转录 cDNA 的长度和产量, 从而提高后续检测的灵敏度。合成的第一链 cDNA 可广泛用于 2nd Strand 的合成、杂交、PCR 扩增、Real-Time PCR 反应等。

#### 组分

名称	100T
5xGolden RT MasterMix	400μl
20xRandom Primer	100μl
RNase Free H <sub>2</sub> O	1ml × 2

**储存:** 请置于-20°C, 可保存 3 年; 避免反复冻融。

注: 如 5xGolden RT MasterMix 出现沉淀属正常现象, 可用手捂化, 混合均匀后使用不影响实验结果。

#### 1. 按以下组分配制反转录反应液

病毒 DNA/RNA 样品	2~10μl
5xGolden RT MasterMix	4μl
*20xRandom Primer	1μl
RNase Free H <sub>2</sub> O	Up to 20μl

\*注: 反转录引物可根据需要改用特异性引物。

#### 2. 根据实际情况反转录可选择快速程序或标准程序

##### 快速程序

37°C	15~30min (cDNA 合成)
85°C	5min (失活 MLV)

##### 标准程序

25°C	10min (引物配对)
55°C	30~60min (cDNA 合成)
85°C	5min (失活 MLV)

注: 通常在定量 PCR 实验中使用快速程序进行反转录(反转录效率>80%), 在进行高 GC 含量、含复杂二级结构、长片段的模板转录时采用标准程序(反转录效率>100%)。