

## **AccelerRT® 5G Template Switching RT Enzyme Mix**

——用于全长 cDNA 合成

Cat. No. **PC020** (10 reactions)

Cat. No. **PC021** (50 reactions)

Cat. No. **PC022** (200 reactions)

Cat. No. **PC023** (1000 reactions)

GeneCopoeia, Inc.      广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城  
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼  
邮编: 510663  
电话: 4006-020-200  
邮箱: [sales@igenebio.com](mailto:sales@igenebio.com)  
网址: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com) (英文)  
[www.igenebio.com](http://www.igenebio.com) (中文)

## AccelerRT® 5G Template Switching RT Enzyme Mix

- I. 产品描述
- II. 产品组分及存储
- III. 实验过程
- IV. 使用许可与质量保证

### I. 产品描述

AccelerRT® 5G Template Switching RT Enzyme Mix (RNase H-)是基于 MMLV-RT 酶通过试管进化 (*in vitro evolution*) 而产生的一种新型逆转录酶, 该酶具 RNA 和 DNA 依赖性的聚合酶活性, 而不具有 RNase H 活性。具有高效模板转换功能, 可用于全长 cDNA 合成。与野生型 MMLV RT 酶相比, 该工程化酶具有更显著的热稳定性、合成持续性以及合成效率。

#### 特征

- 不具有 RNase H 活性
- 具有高效模板转换功能
- 热稳定: 反应混合物在 37-55°C 孵育 60 分钟后, >90%活性
- 高灵敏度: 较宽的 cDNA 合成起始总 RNA 范围 (10 pg–5µg)
- 反应速度快: 在 15-30 分钟内完成 cDNA 合成
- 增加对 RT 反应抑制剂的抵抗力
- 掺入修饰核苷酸

#### 应用

- 全长 mRNA 转录本第一链 cDNA 的合成;
- 单细胞测序文库构建;
- 对于融合基因的发现和检测;
- 生产标记的 cDNA 探针;
- 通过引物延伸进行 RNA 分析。

#### 质量保证

无核酸内切、外切酶活性, 无 RNA 酶污染。

## II. 产品组分及存储

产品货号	组分	组分货号	规格
PC020 (10 rxns)	5G Template Switching RTase Mix	PC020-01	1× 10µl
	5× 5G RT Reaction buffer	PC020-02	1× 50µl
PC021 (50 rxns)	5G Template Switching RTase Mix	PC021-01	1× 50µl
	5× 5G RT Reaction buffer	PC021-02	1× 200µl
PC022 (200 rxns)	5G Template Switching RTase Mix	PC022-01	1× 200µl
	5× 5G RT Reaction buffer	PC022-02	1× 1ml
PC023 (1000 rxns)	5G Template Switching RTase Mix	PC023-01	1× 1ml
	5× 5G RT Reaction buffer	PC022-02	5× 1ml

-20°C 储存，避免反复冻融。

## III. 实验过程

### 实验原理与流程概要

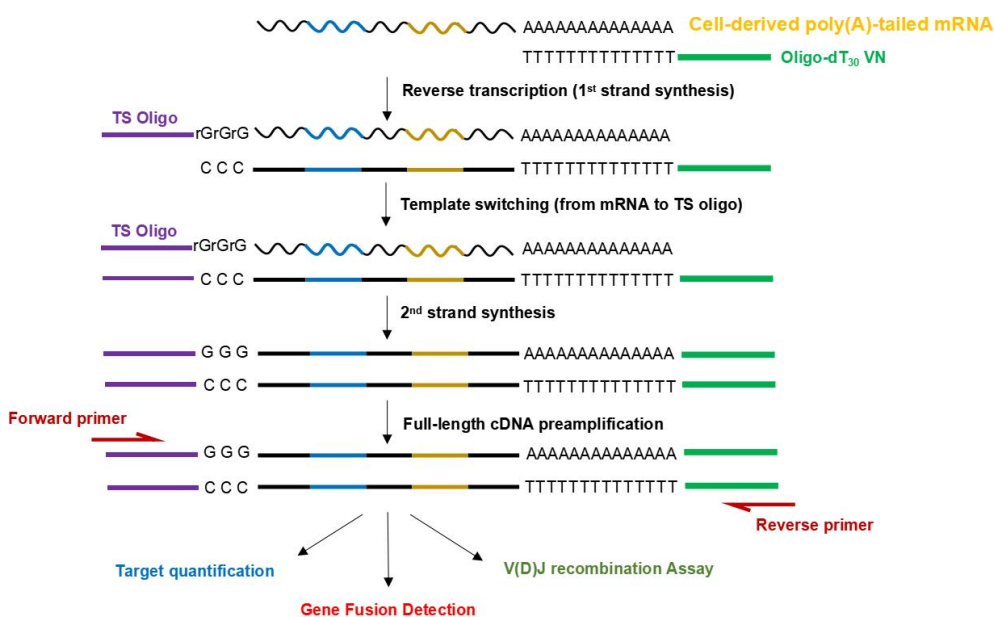


图 1. 全长 cDNA 合成原理。以 Oligo(dT) VN Primer 为逆转录引物进行第一链 cDNA 的合成，并且利用逆转录酶的末端脱氧核苷转移酶 (TdT) 活性(Template-switching)，当逆转录酶到达 RNA 模板的 5'端时，TdT 活性在 cDNA 3'端加上几个不依赖于模板的 C 碱基。在模板转换步骤，使用 Template-switching oligo 模板转换引物合成 cDNA 的第二链，最后，用反向基因特异性引物和正向 TSO 特异性引物进行 PCR 扩增以获得全长 cDNA 产物。

### 全长 cDNA 合成实验

1. 将反应所需组分取出，置于冰上溶解，所有组分充分溶解后震荡混匀并短暂离心收集后置于冰上。
2. 提前预热 PCR 仪。
3. 在反应管中加入以下试剂

组分	用量	终浓度
dNTP Mix, 10mM each	1 $\mu$ l	0.5 mM
10 $\mu$ M dT primer*1	1 $\mu$ l	0.5 $\mu$ M
Total RNA	1ng~ 1 $\mu$ g	
DEPC H <sub>2</sub> O	Up to 5 $\mu$ l	

注：\*1: dT primer 为 oligo (dT)20 VN，不适合用于有降解的 RNA

4. 72°C 3min，然后冰上放置 2 min 以上。
5. 配制以下试剂，混匀并添加至步骤 4 的反应管中：

组分	用量	终浓度
5x 5G RT Buffer	4 $\mu$ l	1x
10 $\mu$ M TSO*2	2 $\mu$ l	1 $\mu$ M
5G Template Switching RTase Mix	1 $\mu$ l	
RNase Inhibitor (25U/ $\mu$ L)	1 $\mu$ l	
DEPC H <sub>2</sub> O	Up to 15 $\mu$ l	

注：\*2: TSO 为 Template-switching oligo

6. 反转录反应程序设置

温度	时间
42°C	90 min
80°C	10 min
16°C	Hold

注：基于微流体或油滴原理的单细胞测序平台的体系会有所不同，需要进一步优化和调整。

### 常规第一链 cDNA 合成

1. 将反应所需组分取出，置于冰上溶解，所有组分充分溶解后震荡混匀并短暂离心收集后置于冰上。
2. 提前预热 PCR 仪。
3. 在反应管中加入以下试剂

组分	用量	终浓度
Total RNA	10 pg ~ 5 µg	
dNTP Mix, 10mM each	1 µl	0.5 mM
Random Primer	1 µl	12.5 µM
Oligo (dT) <sub>18</sub>	1 µl	
DEPC H <sub>2</sub> O	Up to 10 µl	

4. 65°C, 5 min; 迅速置于冰水浴骤冷, 静置 2 min 以上。

5. 配制以下试剂, 混匀并添加至步骤 4 的反应管中:

组分	用量	终浓度
5x 5G RT Buffer	4 µl	1x
5G Template Switching RTase Mix	1 µl	
RNase Inhibitor (25U/µL)	1 µl	
DEPC H <sub>2</sub> O	Up to 15 µl	

6. 反转录反应程序设置

温度	时间
25°C *3	10 min
50°C	15~30 min
80°C	10 min
16°C	Hold

注: \*3: 如果反应体系不加 **Random Primer**, 可以直接在 50°C 进行逆转录反应。

## **IV. Limited Use License and Warranty**

### **Limited Use License**

The following terms and conditions apply to use of AccelerRT® 5G Template Switching RT Enzyme Mix (the Product). If the terms and conditions are not acceptable, the Product in its entirety must be returned to GeneCopoeia within 5 calendar days. A limited End-User license is granted to the purchaser of the Product. The Product shall be used by the purchaser for internal research purposes only. The Product is expressly not designed, intended, or warranted for use in humans or for therapeutic or diagnostic use. The Product must not be resold, repackaged or modified for resale, or used to manufacture commercial products without prior written consent from GeneCopoeia. This Product should be used in accordance with the NIH guidelines developed for recombinant DNA and genetic research. Use of any part of the Product constitutes acceptance of the above terms.

### **Limited Warranty**

GeneCopoeia warrants that the Product meets the specifications described in the accompanying Product Datasheet. If it is proven to the satisfaction of GeneCopoeia that the Product fails to meet these specifications, GeneCopoeia will replace the Product. In the event a replacement cannot be provided, GeneCopoeia will provide the purchaser with a refund. This limited warranty shall not extend to anyone other than the original purchaser of the Product. Notice of nonconforming products must be made to GeneCopoeia within 30 days of receipt of the Product. GeneCopoeia's liability is expressly limited to replacement of Product or a refund limited to the actual purchase price. GeneCopoeia's liability does not extend to any damages arising from use or improper use of the Product, or losses associated with the use of additional materials or reagents. This limited warranty is the sole and exclusive warranty. GeneCopoeia does not provide any other warranties of any kind, expressed or implied, including the merchantability or fitness of the Product for a particular purpose.

GeneCopoeia is committed to providing our customers with high-quality products. If you should have any questions or concerns about any GeneCopoeia products, please contact us at 301-762-0888.

© 2024, GeneCopoeia, Inc.

GeneCopoeia, Inc.

9620 Medical Center Drive, #101, Rockville, MD 20850

Tel: 301-762-0888 Fax: 301-762-3888,

Email: [inquiry@genecopoeia.com](mailto:inquiry@genecopoeia.com)

Web: [www.genecopoeia.com](http://www.genecopoeia.com)