

TransScript® II All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AH341

保存: -20°C保存两年。

产品说明

本产品含有反转录反应所需的全部试剂(TransScript® II RT, RNase Inhibitor, Anchored Oligo(dT)₂₀ Primer, Random Primer(N9), dNTPs, Buffer), 浓度为5×。反应时, 只需加入gDNA Remover、模板RNA和水, 在42°C-55°C条件下即可高效地合成第一链cDNA, 同时去除RNA模板中残留的基因组DNA。另配有5×TransScript® II All-in-One No-RT Control SuperMix for qPCR, 用于配制无反转录酶的对照, 判断qPCR模板是否来自cDNA。该产品操作简便, 降低操作过程中的污染机率。cDNA只适用于qPCR, 不适用于常规PCR。

特点

- All SuperMix 型: 只需加入gDNA Remover、模板RNA 和水, 实现cDNA 合成和去除基因组DNA 同时进行。
- 高热稳定性: 反应温度42°C-55°C。
- 最佳Oligo(dT)₂₀ Primer和Random Primer(N9)配比, 及优化的SuperMix 组成, 确保对不同浓度的RNA有相同的反转录效率, 短链cDNA合成效率高。
- 反转录仅需15分钟。
- 与qPCR试剂的高兼容性。

适用范围

高拷贝、低拷贝基因检测。

试剂盒组成

Component	AH341-01 (50 rxns)
5×TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR	200 µl
5×TransScript® II All-in-One No-RT Control SuperMix for qPCR	20 µl
gDNA Remover	50 µl
RNase-free Water	1 ml

使用前, 请将各组分点甩离心。

第一链cDNA合成和gDNA去除

1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	≤1 µg/ ≤100 ng
5×TransScript® II All-in-One SuperMix for qPCR	4 µl
gDNA Remover	1 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl

2、轻轻混匀, 50°C孵育15分钟。

对于高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板, 可以选择55°C孵育15分钟。

3、85°C加热5秒钟失活TransScript® II RT/RI和gDNA Remover。



推荐qPCR体系与条件 (以20 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
Template	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
Reverse Primer (10 μM)	0.4 μl	0.2 μM
2×PerfectStart™ Green qPCR SuperMix	10 μl	1×
Passive Reference Dye (50×) (optional)	0.4 μl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 μl	-

qPCR (三步法)

94°C 30 sec
 94°C 5 sec
 50-60°C 15 sec ★
 72°C 10 sec ★

40-45 cycles

qPCR (两步法)

94°C 30 sec
 94°C 5 sec
 60°C 30 sec ★

40-45 cycles

Dissociation stage

Dissociation stage

对于ABI仪器, 荧光信号采集步骤 (三步法中可以是退火或是延伸步骤) 的时间如下

- ★使用ABI Prism7700/7900时, 采集时间设定为30秒;
- ★使用ABI Prism7000/7300时, 采集时间设定为31秒;
- ★使用ABI Prism7500时, 采集时间设定为34秒;
- ★使用ABI ViiA 7时, 采集时间设定为至少19秒。

高扩增效率选择三步法。高特异性选择两步法。

Passive Reference Dye适用机型

• Passive Reference Dye I (50×)

ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast

• Passive Reference Dye II (50×)

ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio Dx/3/5, ABI QuantStudio 6/7/12K Flex, ABI ViiA 7, Stratagene Mx3000P/Mx3005P/Mx4000

• No Passive Reference Dye

Roche LightCycler 480, Roche Light Cycler 96, MJ Research Chromo4, MJ Research Opticon 2, Takara TP-800, Bio-Rad iCycler iQ, Bio-Rad iCycler iQ5, Bio-Rad CFX96, Bio-Rad C1000 Thermal Cycler, Thermo Scientific Pikoreal 96, Qiagen Corbett Rotor-Gene 6000, Qiagen Corbett Rotor-Gene G, Qiagen Corbett Rotor-Gene Q, Qiagen Corbett Rotor-Gene 3000, Mastercycler ep realplex

注意事项

- 对于复杂RNA模板, 或为了获得更高的合成效率, 建议将RNA模板与RNase-free Water混匀, 65°C孵育5分钟后, 冰浴2分钟, 然后再加入其它反应组分。
- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功, 请使用高质量的RNA模板。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

