

TransScript® miRNA First-Strand cDNA Synthesis SuperMix

TransScript miRNA 第一链cDNA合成试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AT351

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

产品说明

本产品以miRNA为模板,在同一反应体系中用TransScript® miRNA RT Enzyme Mix (包含加尾酶和反转录酶)、2×TS miRNA Reaction Mix一步完成高效加尾和合成第一链cDNA,操作简便,适用于Total RNA或small RNA等包含miRNA的样品的反转录,且反转录过程中其它形式的RNA,如mRNA、snRNA等也可被反转录为cDNA。

特点

- 最佳的加尾酶和反转录酶配比及优化的反应缓冲液,确保miRNA的反转录效率。
- Poly(A)加尾和cDNA合成在同一反应体系中一步完成。

适用范围

miRNA检测。

试剂盒组成

Component	AT351-01 (20 rxns)	AT351-02 (50 rxns)
TransScript® miRNA RT Enzyme Mix	20 µl	50 µl
2×TS miRNA Reaction Mix	200 µl	500 µl
Universal miRNA qPCR Primer (10 µM)	200 µl	500 µl
RNase-free Water	1 ml	2×1 ml

使用前, 请将各组分量离心。

加尾反应和第一链cDNA合成

1、加入

Component	Volume
Total RNA/miRNA*	x µl
TransScript® miRNA RT Enzyme Mix	1 µl
2×TS miRNA Reaction Mix	10 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl

*Total RNA不超过5 µg, miRNA无法直接用分光光度计定量, 推荐用量1-9 µl (20 µl体系)。

2、轻轻混匀, 37°C孵育1小时。

3、85°C加热5秒钟失活RT Enzyme Mix。



推荐qPCR体系与条件 (以20 μl 反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
cDNA*1	Variable	as required
Forward Primer (10 μM)*2	0.4 μl	0.2 μM
Universal miRNA qPCR 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	-

*1、反转录所得cDNA建议稀释5-10倍后使用。

*2、上游引物为miRNA特异引物，根据目的miRNA设计。

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

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

