品质高于一切
精品服务科研

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℃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℃-55℃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℃-55℃。
- 最佳Oligo(dT)$_{18}$ 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℃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℃孵育15分钟。

3、85℃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×*TransStart*® Top/Tip 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℃ 30 sec
94℃ 5 sec
50-60℃ 15 sec★ } 40-45 cycles
72℃ 10 sec★
Dissociation stage

qPCR（两步法）

94℃ 30 sec
94℃ 5 sec } 40-45 cycles
60℃ 30 sec★
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℃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。

服务投诉电话 +86-10-57815020
服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn