

# TransScript® II Two-Step RT-PCR SuperMix

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AH401

保存: -20°C保存两年。

## 产品说明

TransScript® II Two-Step RT-PCR SuperMix是具有高效合成效率和高扩增效率的两步法RT-PCR试剂盒。反转录用5×TransScript® II All-in-One SuperMix for PCR在42°C-55°C条件下, 高效地将RNA合成第一链cDNA; PCR用2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II扩增。本试剂盒含有从RNA到cDNA, 以及PCR此cDNA的全部试剂。

## 特点

- 用5×TransScript® II All-in-One SuperMix for PCR高效地将RNA合成第一链cDNA, 操作简便, 降低操作过程中污染机率。
- 2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II 适用于cDNA扩增, 具有高保真、高特异性、高扩增效率的特点。
- 扩增产物3'端带“A”, 可直接克隆于pEASY®-T系列载体中。
- 扩增片段≤15 kb。

## 适用范围

- cDNA文库构建、引物延伸、3'和5' RACE。
- 高拷贝、低拷贝基因检测。
- 高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板。

## 试剂盒组成

Component	AH401-01
5×TransScript® II All-in-One SuperMix for PCR	200 µl
2×TransTaq® HiFi PCR SuperMix II	2×1 ml
RNase-free Water	1 ml

使用前, 请将各组分点甩离心。

## 第一链cDNA合成

### 1、加入

Component	Volume
Total RNA/mRNA	50 ng-5 µg/5-500 ng
5×TransScript® II All-in-One SuperMix for PCR	4 µl
RNase-free Water	Variable
Total volume	20 µl

对于复杂RNA模板, 或为了获得更高的合成效率, 需要首先将RNA模板与RNase-free Water混匀, 65°C孵育5分钟后冰上静置2分钟, 然后再加入其它反应组分。

### 2、轻轻混匀

- 如RNA模板含有Poly(A)<sup>+</sup>结构, 50°C孵育30分钟。
- 如RNA模板不含Poly(A)<sup>+</sup>结构, 25°C孵育10分钟, 50°C孵育30分钟。
- 对于高GC含量或具有复杂二级结构的RNA模板, 可选择55°C孵育30分钟。

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



推荐PCR体系与条件 (以50  $\mu$ l反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
cDNA	2 $\mu$ l	as required
Forward Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
Reverse Primer (10 $\mu$ M)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
2 $\times$ TransTaq <sup>®</sup> HiFi PCR SuperMix II	25 $\mu$ l	1 $\times$
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	50 $\mu$ l	-

PCR

94 $^{\circ}$ C	2-5 min	} 35-40 cycles
94 $^{\circ}$ C	30 sec	
50-60 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	1-2 kb/min	
72 $^{\circ}$ C	5-10 min	

注意事项

- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 一步混匀所有的反应组分可以成功完成大多数反转录反应。对于复杂RNA模板，或为了获得更高的合成效率，建议按照说明书增加模板与引物的热孵育步骤。

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](mailto:complaints@transgen.com.cn)

