

EasyScript® 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: AE341

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(EasyScript® RT, RNase Inhibitor, Anchored Oligo(dT)₁₈ Primer, Random Primer(N9), dNTPs, Buffer), 浓度为5×。反应时, 只需加入gDNA Remover、模板RNA和水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×EasyScript® 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。
- 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	AE341-02 (100 rxns)	AE341-03 (500 rxns)
5×EasyScript® All-in-One SuperMix for qPCR	400 μl	5×400 μl
5×EasyScript® All-in-One No-RT Control SuperMix for qPCR	40 μl	200 μl
gDNA Remover	100 μl	5×100 μl
RNase-free Water	2×1 ml	2×5 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×EasyScript® 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, 42°C孵育15分钟。

3、85°C加热5秒钟失活EasyScript® 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

- 避免RNase污染。
- 为了保证反转录成功，请使用高质量的RNA模板。
- 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。
- 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。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com.cn

