

TransScript® Uni Visual All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal) 示踪版耐高温全预混第一链cDNA合成试剂盒(一步法去除gDNA) (用于qPCR)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: AU342

版本号: Version 1.0

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

产品说明

TransScript® Uni Visual All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (One-Step gDNA Removal) 包含反转录反应所需的全部成分(TransScript® Uni RT, RNase Inhibitor, Anchored Oligo(dT)₂₀ Primer, Random Primer(N9), dNTPs, Buffer), 可在同一管反应中实现cDNA合成和去除基因组DNA。反应时, 只需加入5×Visual All-in-One Reaction Mix for qPCR、TransScript® Uni All-in-One Enzyme Mix、模板RNA和水, 在42°C-65°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20×No RT Control Mix, 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。产品含有蓝色示踪染料, 实现移液可视化。可搭配通用型示踪染料法荧光定量PCR预混液(目录号: AQ641)使用, 实现反转录与qPCR扩增全程可视化操作。cDNA产物只适用于qPCR, 不适用于常规PCR。

特点

- 高热稳定性: 反应温度42°C-65°C。
- All SuperMix型: 只需加入5×Visual All-in-One Reaction Mix for qPCR、TransScript® Uni All-in-One Enzyme Mix、模板RNA和水, 一管反应实现cDNA合成和去除基因组DNA同时进行。
- 最佳Oligo(dT)₂₀ Primer 和Random Primer(N9) 配比, 及优化的试剂成分组成, 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5分钟。
- 与qPCR试剂的高兼容性。
- 含有蓝色示踪, 移液可视化。

适用范围

高拷贝、低拷贝基因检测。

试剂盒组成

Component	AU342-02 (100 rxns)
5×Visual All-in-One Reaction Mix for qPCR	400 µl
TransScript® Uni All-in-One Enzyme Mix	100 µl
20×No RT Control Mix	40 µl
RNase-free Water	2×1 ml
1× cDNA Dilution Buffer	2×1 ml

使用前, 请将各组分点甩离心。

第一链cDNA合成和gDNA去除

1、反转录反应体系与No RT Control 反应体系(可选)



Component	Volume (RT Reaction)	Volume (No RT Control)
Total RNA/mRNA	≤1 µg/ ≤100 ng	≤1 µg/ ≤100 ng
5×Visual All-in-One Reaction Mix for qPCR	4 µl	4 µl
<i>TransScript</i> [®] Uni All-in-One Enzyme Mix	1 µl	-
20×No RT Control Mix	-	1 µl
RNase-free Water	Variable	Variable
Total volume	20 µl	20 µl

2、轻轻混匀，50℃孵育5分钟。对于GC含量高或具有复杂二级结构的RNA模板，可适当升高反应温度 (≤65℃)。

3、85℃加热2分钟失活。

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× <i>PerfectStart</i> [®] IV Visual Green qPCR SuperMix	10 µl	1×
Nuclease-free Water	Variable	-
Total volume	20 µl	-

qPCR (两步法)

95℃ 1 min
95℃ 5 sec
60℃ 30 sec ★ } 40-45 cycles

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。

Universal Passive Reference Dye适用机型

- Universal Passive Reference Dye (50×)

ABI Prism 7000/7300/7700/7900, ABI Step One, ABI Step One Plus, ABI 7900HT, ABI 7900HT Fast, ABI Prism 7500, ABI Prism 7500 Fast, ABI QuantStudio 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 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。
- 1×cDNA Dilution Buffer可用于稀释cDNA。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202608
服务电话 +86-10-57815020
服务邮箱 complaints@transgen.com

